

生物化学

细胞结构和功能的分子基础

〔美〕 A. L. 伦宁格 著

科学出版社

58.173
49°
2

生物化学

细胞结构和功能的分子基础

[美] A. L. 伦宁格 著
任邦哲 卢惠霖 周衍淑 等译

Introduction	551
The Molecular Basis of Cell Structure and Function	552
Apoptosis	553
Biochemistry	554
Cell Biology	557
Molecular Biology	559
Protein Function	560
Signal Transduction	561
Structure	562
Transport	563
Virology	564
Water	565
X-ray Crystallography	567
Electron Microscopy	567
Fluorescence Microscopy	568
Immunology	569
Molecular Biology	570
Nanobiotechnology	571
Neurobiology	572
Oncology	573
Pharmacology	574
Physiology	575
Proteomics	576
Structural Biology	577
Systems Biology	578
Synthetic Biology	579
Toxicology	580
Virology	581
X-ray Crystallography	582



科学出版社

1983

中科院植物所图书馆



S0017426

内 容 简 介

本书介绍了生物化学中重要的基本知识和理论。着重阐述了细胞内能量转移的规律，各种主要代谢的调节机理，细胞各种超微结构在生命活动中的作用，蛋白质的生物合成，蛋白质分子空间构型与生物功能的关系，以及生物特征遗传的分子基础等，并反映了这些领域里的新进展。

全书共分四篇，三十七章。中译本分上下两册出版，下册包括 III、IV 两篇，共十五章（二十三—三十七章）。可供大专院校生物系师生，生物化学、细胞生物学及医学工作者参考。

Albert L. Lehninger
BIOCHEMISTRY

The Molecular Basis of Cell Structure and Function
Worth Publishers Inc., 2nd ed., 1975

生 物 化 学

细胞结构和功能的分子基础

下 册

[美] A. L. 伦宁格 著
任邦哲 卢惠霖 周衍淑 等译

责任编辑 姜梦兰

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

三

1983年5月第 一 版 开本：787×1092 1/16

1983年5月第一次印刷 印张：24 3/4

印数：0001—8,300 字数：571,000

统一书号：13031·2236

本社书号：3059·13—10

定 价：3.80 元

目 录

第 III 篇 生物合成及磷酸键能的利用

第二十三章 糖类的生物合成	546
糖合成的主要途径	546
从丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸的生物合成途径	547
三羧酸循环中间产物产生的糖原异生作用	550
从氨基酸产生的糖原异生作用	551
植物和微生物中从乙酰辅酶 A 产生的糖原异生作用	551
糖原异生作用和糖酵解作用的调节	552
无效循环	553
葡萄糖通过 Calvin 途径的光合生成	554
生成葡萄糖的 C ₄ 或 Hatch-Slack 途径	557
光呼吸作用	559
从葡萄糖-6-磷酸开始的生物合成途径：核苷二磷酸糖类	560
从 UDP-葡萄糖生成单糖衍生物	561
半乳糖代谢：半乳糖血症	562
双糖及其它糖苷的生物合成	563
糖原和淀粉的合成以及核苷二磷酸糖类的作用	564
糖原合成和断裂的调节	565
糖原中葡萄糖残基的转换	567
细胞壁和外膜的结构多糖类	567
植物的细胞壁；昆虫外骨骼	567
动物	568
粘多糖过多症	569
细菌的细胞壁	569
摘要	572
参考文献	573
习题	574
第二十四章 脂类的生物合成	575
饱和脂肪酸的生物合成	575
脂肪酸合成的碳源	576
丙二酰 CoA 的形成：乙酰 CoA 羧化酶	577
脂肪酸合成酶系的一些反应	579
线粒体和微粒体中饱和脂肪酸的延伸	582

单烯酸的形成	583
多烯酸的形成	584
三酰基甘油的生物合成	585
磷酸甘油酯的生物合成	586
鞘磷脂和其它鞘脂类的生物合成	589
复杂脂类代谢中的遗传性紊乱	591
胆固醇生物合成的途径	593
胆固醇生物合成的调节	597
胆固醇酯的合成	597
其它类固醇类的形成	598
前列腺素的生物合成	599
乙酸作为脂类生物合成的前身物的重要作用	600
摘要	600
参考文献	601
习题	602
第二十五章 氨基酸和某些衍生物的生物合成；无机氮的代谢	603
非必需氨基酸的生物合成	603
半胱氨酸和蛋氨酸的有机硫的来源	608
必需氨基酸的生物合成	608
芳香族氨基酸的生物合成	615
氨基酸生物合成的调节	618
氨基酸的前身物功能	619
固氮有机体	625
氮固定的酶促机制	625
氮循环中的其它步骤	627
摘要	628
参考文献	628
习题	629
第二十六章 核苷酸的生物合成	632
嘌呤核糖核苷酸的生物合成	632
从次黄嘌呤转变为腺苷酸和鸟苷酸的途径	635
嘌呤核苷酸生物合成的调节	636
嘧啶核苷酸的生物合成	637
嘧啶核苷酸生物合成的调节	638
脱氧核糖核苷酸的生物合成	639
脱氧胸苷酸的形成	640
脱氧核糖核苷酸生物合成的调节	641
嘌呤的降解作用	642
嘌呤的补救作用	643

嘧啶降解	643
嘌呤核苷酸循环	643
核苷酸辅酶类的生物合成	645
摘要	645
参考文献	646
习题	646
第二十七章 肌肉和运动系统的生物化学	647
骨骼肌的超微结构组织	648
收缩时肌小节中的变化	650
肌细胞的蛋白质成分	651
肌球蛋白	652
肌球蛋白 ATP 酶活性的机制	654
粗肌丝的分子结构	655
肌动蛋白	656
细丝的分子结构	657
肌动球蛋白复合物	658
由 Ca^{2+} 触发粗丝-细丝的相互作用以及力的产生	659
兴奋-收缩偶联	660
松弛	662
肌肉收缩的能源	662
特殊化了的肌肉：异步肌和“捕”肌	664
细胞内肌纤维以外的收缩蛋白	665
微丝和细胞松弛素 B	665
微管和微管蛋白	666
真核细胞的鞭毛和纤毛	667
细菌的鞭毛	670
摘要	671
参考文献	671
习题	672
第二十八章 横过膜的主动转运	674
主动转运的能学	674
鉴定媒介膜转运的特征	677
主动媒介转运和被动媒介转运	678
媒介转运的模型	678
基团易位过膜	679
转运系统的遗传证据	680
动物组织中膜转运系统的结构	680
动物组织中的被动转运系统	681
动物组织的主动转运系统	682

细菌内的主动转运系统	688
离子载体	692
摘要	693
参考文献	694
习题	695
第二十九章 激素作用的生物化学	696
哺乳动物内分泌系统的组织机构	696
激素受体与细胞内信使	698
肾上腺素与 cAMP 的发现	699
腺苷酸环化酶, 蛋白激酶与磷酸二酯酶	700
肾上腺素激发的糖原降解中的放大阶式级联	701
胰高血糖素	703
以 cAMP 为媒介的其它内分泌和调节系统	703
胰岛素: 合成、储存与分泌	704
胰岛素对靶组织的作用	706
胰岛素受体	707
胰岛素结合对环核苷磷酸的影响	708
甾类激素	709
甲状腺激素与基础代谢率	710
甲状旁腺激素、1, 25-二羟胆钙化甾醇与降钙素	711
摘要	712
参考文献	713
第三十章 哺乳类代谢中各器官之间的相互关系	714
器官之间的运输: 血液	714
哺乳动物中主要代谢活动的器官分布	715
紧急状况下代谢的调整	723
癌中代谢的相互作用	729
摘要	730
参考文献	731
习题	732

第 IV 篇 遗传信息的复制、转录和翻译

核酸的分子结构	736
第三十一章 DNA 及遗传物质的结构	738
DNA 使细菌转化	738
DNA 作为遗传物质的生化证据	739
DNA 中碱基组成的当量	739
DNA 结构的 Watson-Crick 模型	740

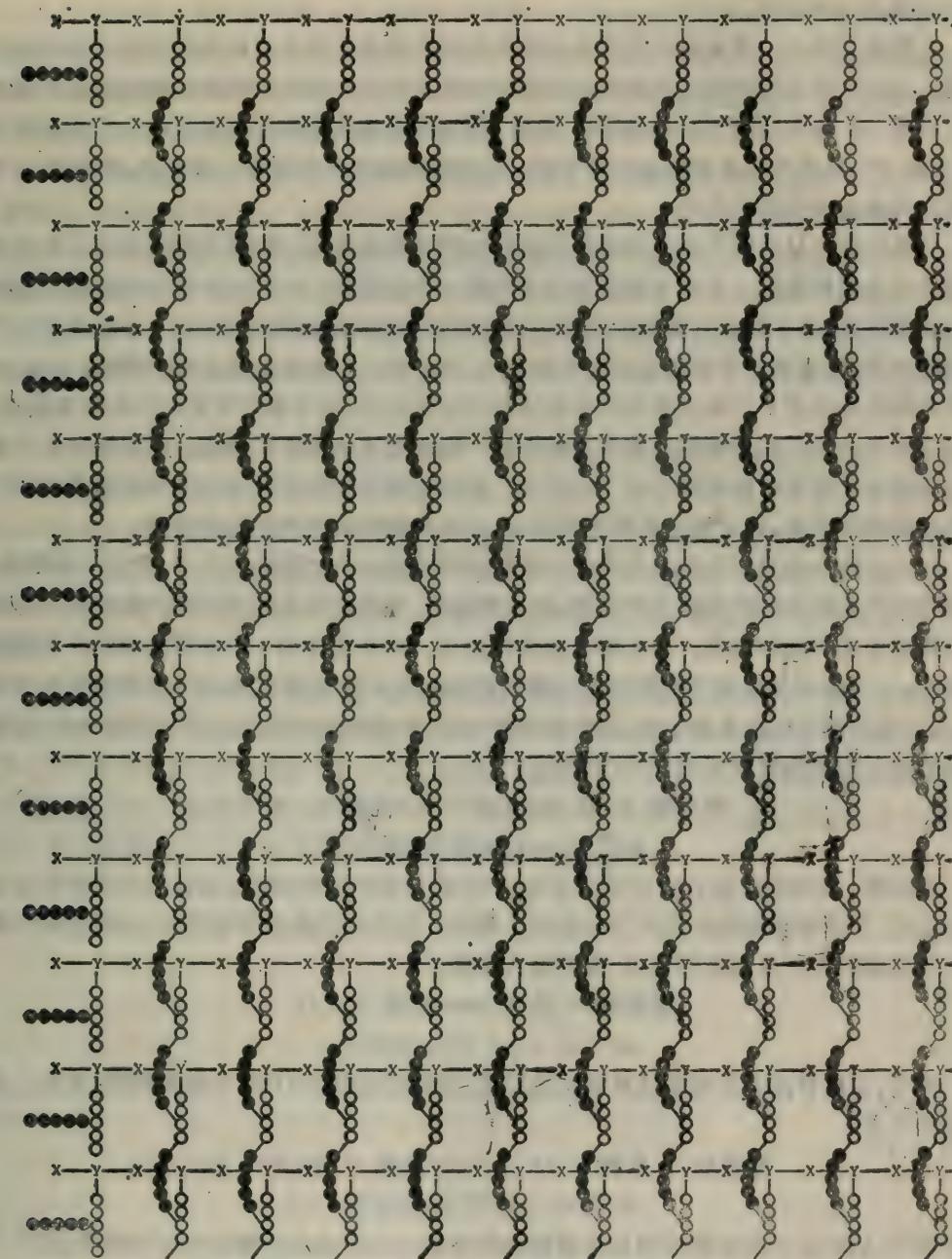
107· 病毒 DNA: 环形法则	744
107· 细菌 DNA	746
107· 真核细胞染色体	747
107· 环形 DNA 的超螺旋	749
107· DNA 在溶液中的性质	749
107· DNA 的变性	751
107· 染色体结构图的描绘	754
107· 基因和突变单位的大小	756
107· 突变的分子本质	757
107· DNA 的修饰作用和限制作用	758
008· 杂交技术: 不同物种 DNA 的顺序同源性	759
008· 真核细胞 DNA 的回文子	760
108· 真核生物 DNA 的重复顺序	761
108· 专一基因的分离	761
108· 多聚脱氧核糖核苷酸及基因的化学合成	762
108· 摘要	763
008· 参考文献	764
108· 习题	765
第三十二章 DNA 的复制和转录	767
208· DNA 的半保守复制: Meselson-Stahl 实验	767
518· 染色体复制的起始点和方向	769
818· DNA 聚合酶 I	770
818· DNA 聚合酶 I 的核酸外切酶活性, 一个多功能酶	772
218· 在 DNA 聚合酶作用中已生成的 DNA 的功用	772
818· DNA 聚合酶 I 所作复制的精确性	774
718· DNA 连接酶	777
918· 由 DNA 聚合酶 I 与 DNA 连接酶的作用而酶促合成 ϕ X174 DNA	778
218· DNA 聚合酶 I 的核酸外切酶活性的功能	780
018· DNA 聚合酶 II、III 和 III*	781
058· DNA 的短步复制	782
158· DNA 解链与解扭蛋白质	783
808· RNA 在 DNA 链的起始中的功用	785
808· DNA 复制的一种假说	785
808· 真核细胞中 DNA 的复制	786
608· DNA 的修补	787
058· DNA 的重组: 外来基因有指导地掺入染色体	788
818· RNA 指导的 DNA 聚合酶(反转录酶)	789
058· RNA 的生物合成: DNA 指导的 RNA 聚合酶	790
018· 模板专一性与转录的起步	790

RNA 链的延长和终止	791
DNA 指导的 RNA 聚合酶的产物	791
RNA 的转录后加工	792
RNA 合成的抑制剂	792
转录过程的形象化	794
病毒 RNA 的复制: RNA 复制酶	795
多核苷酸磷酸化酶	796
摘要	796
参考文献	797
习题	798
第三十三章 翻译: 蛋白质的生物合成	800
核糖体是蛋白质合成的部位	800
蛋白质生物合成的必需辅助因子和各个阶段	801
多肽合成时肽链增长的方向和速率	802
氨基酸激活反应及其氨基酸的专一性	803
tRNA 的结构和激活酶的专一性	804
tRNA 的连接作用	806
核糖体的结构	807
多肽链的起始	808
延长循环	809
多肽链的终止	812
多肽链翻译后的加工	813
蛋白质生物合成的抑制剂	813
多聚核糖体	815
蛋白质合成中的能量需要	816
真核细胞细胞质内的蛋白质合成和分泌	817
线粒体内的蛋白质合成	819
蛋白质合成的老化和误差	819
摘要	820
参考文献	820
习题	821
第三十四章 遗传密码	823
密码单位的大小	823
核糖体系统对 mRNA 的依赖性	823
密码词汇中碱基的顺序	825
密码词汇字典的一般特征	826
关于密码词汇派定的遗传学证据	828
RNA 中的起步密码子和起始位点	829
终止密码子	829

信使 RNA 的生物化学制图	830
密码的普遍性	832
蛋白质中无密码的氨基酸的形成：翻译后的修饰	833
反密码子的鉴定：密码子-反密码子配对	833
氨基酸密码的进化	834
摘要	836
参考文献	836
习题	837
第三十五章 基因表达的调节	839
细菌中的组成酶和诱导酶	839
酶的阻遏	841
降解产物阻遏	841
调节基因、结构基因和阻遏物	841
操纵子模型	843
酶的阻遏	844
阻遏物的分离和化学本质	845
启动子	847
cAMP 和操纵子的转录	847
在 DNA 的 lac 控制区中专一座位的鉴定	848
核糖体 RNA 合成的约束控制和松弛控制	849
细菌中翻译的控制	850
真核细胞中的基因表达	851
真核生物中酶的诱导和阻遏	851
激素对基因表达的调节	852
细胞周期中基因的表达	853
细胞分化中基因表达的调节：组蛋白与非组蛋白类的蛋白质	855
核不均一 RNA	856
真核生物中基因调节的 Britten-Davidson 模型	856
免疫反应	858
抗体的结构	859
抗体形成的细胞机制	860
摘要	862
参考文献	862
习题	864
第三十六章 形态发生的分子基础	866
大分子和超分子系统的亚基结构	866
亚基的优点	866
亚基自身装配的驱动力	867
超分子系统自身装配中的信息来源	868

亚基装配顺序	869
自身装配系统中的合作性	869
低聚蛋白质中优先的装配途径	869
烟草花叶病毒的自身装配	870
T4 噬菌体的自身装配	873
核糖体的自身装配	877
其它自身装配过程：膜系统	879
更高级别结构的形态发生	880
摘要	881
参考文献	881
第三十七章 生命起源	883
化学进化与生物进化的年代表	883
若干工作假设	885
导致有机化合物非生物起源的条件	886
有机化合物的地球外形成	887
生命出现前的缩合剂	888
生命出现前多肽的形成	890
生命出现前酶活性的起源	891
生命出现前核苷酸和核酸的起源	892
模板体系的非生物形成	893
不对称生物分子的起源	894
“生命”起源与细胞起源	894
团聚体小滴	895
类蛋白质微球	896
基因假说：没有蛋白质的生命	898
生化进化中的较后步骤	901
摘要	902
参考文献	903
附录 I 生物化学年表	904
附录 II 生物化学研究文献中常用略语	910
附录 III 单位符号、词头和物理常数	914
附录 IV 习题答案	915

第 III 篇 生物合成及磷酸键能的利用



图示金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖主链。在细胞膜之外、从胞质内生成的前身物转变而来的肽聚糖主链的酶促组合，是已知的较复杂的生物合成活动之一。[引自 J. L. Strominger, K. Izaki, M. Matsuhashi, D. J. Tipper, *Fed. Proc.*, 26: 9(1967)]

图例: X=N-乙酰氨基葡萄糖残基 Y=N-乙酰胞壁酸残基

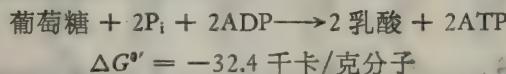
○○○○=L-丙氨酸-D-异谷氨酸-L-赖氨酸-D-丙氨酸侧链 ●●●●=五甘氨酸交联键

需要自由能的细胞过程可以归于三种主要类型之一：(1)生物合成，在此过程中完成化学功；(2)收缩及运动，这些均为机械功的形式；(3)主动转运，这是渗透功或浓缩功的反映。这些活动所需要的自由能主要由 ATP 的磷酸键能，以及由 NADPH 和其它还原辅酶的还原能力所提供。

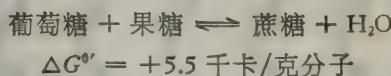
在需能过程中，最复杂的反应是从简单的前身物来生物合成细胞的主要分子组成的作用。这一主要过程包括在消耗细胞周围的物质来建立和维持活细胞的错综复杂的规律中。在第 III 篇中，我们将讨论糖类、脂类、氨基酸及核苷酸等非信息生物分子的生物合成，在第 IV 篇我们将考虑核酸和蛋白质，即细胞的信息大分子的生物合成，特别是有关保存和传递遗传信息的机制。

当我们现在从分解代谢转而讨论合成代谢的生物化学时，需要重复和强调生物合成过程的某些组织原则。在第十四章中述及的第一个原则是：一个生物分子的生物合成所取的化学途径，并不常与它降解中所取的途径相同。这两个途径可以含有一个或甚至几个相同的步骤，但通常在分解或合成代谢途径中，至少有一个酶促步骤是不相同的。因此细胞成分的生物合成及分解机理并非单纯地相互可逆过程。这个事实有重大的生物学意义：假如分解代谢及合成代谢的反应是由同样的一组酶可逆地作用所催化，那就没有任何复杂的稳定的生物学结构能够存在了。因为，被自由地可逆反应系统所调节的前身物和产物之间的各种平衡，就会通过质量作用效应，因前身物的浓度变化而有波动。

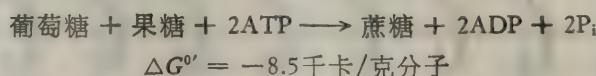
构成生物合成反应的基础的第二个组织原则涉及这些过程的能力学。我们已经看到：在细胞中产生自由能的那些化学过程，例如糖酵解、呼吸作用及光合作用的光反应，与那些消耗自由能的细胞过程，如生物合成途径之间，ATP 是作为一个共同的中间产物而起作用的。一个分解反应程序中放出的大量的自由能以 ATP 的形式保存下来其所以是可能的，因为总的偶联反应是放能的，因此能朝着 ATP 形成的方向进行。例如产生 ATP 的糖酵解的总反应是高度放能的，如我们所见：



依同理，需能的生物合成过程必定与 ATP 的分解产能相偶联，因此总的偶联反应也是放能的，于是朝着生物合成的方向进行。例如，在标准的热力学情况下，由葡萄糖和果糖合成蔗糖的反应是强吸能反应，需要输入能量：



然而，在糖甘蔗中生物合成蔗糖的总反应，其中包括与 ATP 的分解相偶联，实际上也是放能的反应：



由于两个 ATP 分子的分解作用与在葡萄糖和果糖之间合成共价键的作用相偶联，这个总的生物学反应变成放能的，因而朝着合成蔗糖的方向进行。

ATP 的焦磷酸裂解作用是能将反应“拉”向生物合成方向进行的另一途径。当一个生物合成反应与 ATP 裂解相偶联时，释放出来的是焦磷酸盐，而不是正磷酸盐。这样的反应中的标准自由能的降低程度实际上比从 ATP 分裂出正磷酸盐的那种反应的要大些。而

且焦磷酸盐随后经焦磷酸酶水解成为正磷酸盐。因此，在涉及焦磷酸裂解的生物合成反应中，两个高能磷酸键可能最终为在一个生物合成产物中仅只产生一个新共价键而被消耗掉。

作为生物合成反应的第三个重要的原则是：生物合成反应的调节机理是与相应的分解代谢的调节机理无关的。这种独立的调节之所以可能，是由于合成及分解的途径并不相同。通常控制分解代谢途径速度的调节酶并不参与合成代谢过程，反之，控制生物合成代谢途径的调节酶也不参与分解代谢途径。

我们也已见到，大多数的分解代谢途径似乎是由细胞的能荷 (energy charge) 或者是磷酸化作用电位调节的。AMP 或 ADP 常作为控制分解代谢速度的调节酶的激发性调节剂，而 ATP 则作为抑制性调节剂。某些其它分解代谢产物，例如柠檬酸或 NADH 也可抑制分解代谢途径。生物合成途径，特别是合成糖原和脂肪等形式的燃料贮存物的途径，同样受到 ATP、ADP 或 AMP 的调节。然而，氨基酸和核苷酸的生物合成主要是由生物合成过程的最终产物的浓度所调节的。这样，细胞所合成的生物分子仅仅是它当时所需要的那么多。

在生物合成途径中，受变构控制的调节酶，几乎总是从某些关键的前身物，或从一个代谢链中的一个分支点开始的反应程序中的第一个酶。这种安排在生物学上是有利的，因为在生物合成程序中对第一个步骤的变构抑制，可以避免消耗前身物以生成不需用的中间产物。加之，在生物合成程序中第一个反应常常是不可逆的。通常把这个第一反应说成是决定性的步骤，因为它一旦发生，生物合成过程的其他步骤就几乎总是继续进行到完成。

最后还须指出一点：是产生 ATP 的分解代谢“推动”需要 ATP 的合成代谢呢？还是合成代谢“推动”分解代谢？答案是两者都不是。正确的说法是细胞的生物合成及所有需要 ATP 的其他活动带动着产生 ATP 的分解代谢过程。通常 ATP 磷酸键能的利用率决定着消耗环境中能量再从 ADP 生成 ATP 的速率。这种关系不过是活细胞的分子逻辑中最大经济原则的另一方面，即 ATP 仅当需要它时才生成。

第二十三章 糖类的生物合成

从纯数量的观点来看，从简单的前身物生物合成葡萄糖及其它糖类是生物界进行的最卓越的生物合成过程。在光合有机体的领域中，从二氧化碳及水生成的己糖转变成在植物界中以巨大数量存在着的淀粉、纤维素及其他多糖类。在异养性有机体的领域中，丙酮酸、乳酸、氨基酸及其他简单的前身物转变为葡萄糖及糖原也是一种主要的生物合成途径。

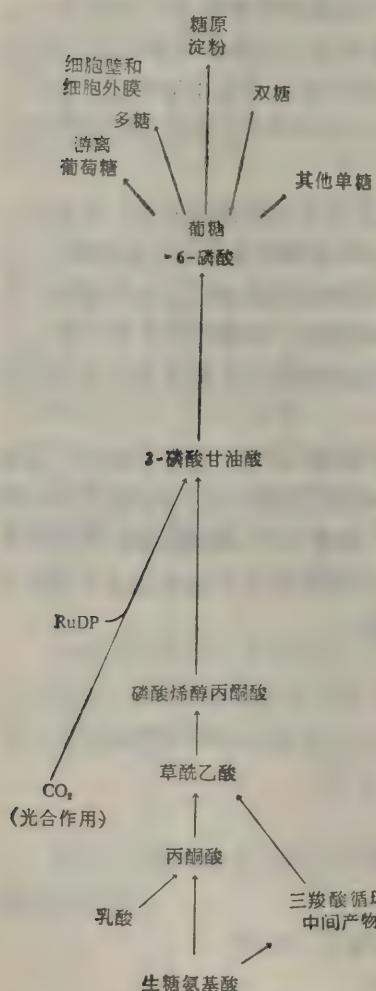


图 23-1 己糖生物合成的主要途径。从 CO_2 、乳酸盐和氨基酸而来的进入主要途径的附属途径，如同从葡萄糖-6-磷酸转变为其它糖类的分支途径一样，均用细箭头（除丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸以外的箭头）表示。RuDP 即核酮糖-1, 5-二磷酸，是在己糖的光合生成作用中的一个重要的中间产物。

现在我们将追踪包括从简单的前身物生物合成葡萄糖和其他的己糖、由单糖转变为双糖、以及各种贮存物和结构多糖的生物合成中的酶促途径。我们也将检查在这些过程中控制关键性酶促步骤速率的调节机理。

糖合成的主要途径

在大多数细胞中，在有氧或无氧的条件下，葡萄糖或葡萄糖-6-磷酸受糖酵解酶类催化转变为丙酮酸是糖分解代谢的主要途径。与此相当，丙酮酸转变为葡萄糖-6-磷酸这一逆过程是许多不同有机体的糖类生物合成的主要途径(图 23-1)。来自非糖前身物的各种分支途径均汇集到这个主要的生物合成途径中来(图 23-1)。一个这样的分支途径包括将三羧酸循环的中间产物转变为葡萄糖的前身物的反应程序；某些氨基酸的碳链转变成葡萄糖时也利用了此途径。另一个主要分支途径包括光合细胞中引起 CO_2 净还原成葡萄糖前身物的那些反应。

虽然几乎所有的有机体，包括异养体类和自养体类，均可运用从丙酮酸合成葡萄糖-6-磷酸的主要生物合成途径，但不同类型细胞利用分支途径的程度亦不相同。例如只有光合及化学合成的自养体类能使 CO_2 净还原成新的葡萄糖。在另一方面，几乎所有的生物均能将生糖氨基酸转变为三羧酸循环中的某些中间产物，由此再变成葡萄糖。脊椎动物在激烈的肌肉活动后恢复期中主要在肝脏中进行的，从血液乳酸盐净合成葡萄糖，是一个特别活跃的过程。

从主要的生物合成途径中形成的葡萄糖-6-磷酸

开始有几个生物合成的分支旁路(图 23-1)可形成(1)其他单糖及其衍生物；(2)各种双糖；(3)燃料贮存物多糖例如淀粉和糖原，以及(4)细胞壁和细胞外膜的成分，例如纤维素、木聚糖、肽聚糖、酸性粘多糖和糖蛋白。在不同的有机体中，从葡萄糖-6-磷酸转变为这些产物的分支途径也很不相同。例如，在多种植物中有合成双糖蔗糖的能力，但在哺乳动物的组织中却缺乏这种能力。形成细胞外聚合物的各种生物合成途径也具有种族特异性。例如，植物能制造大量纤维素，而哺乳动物则不能；反之，动物能合成各种粘多糖，但植物则不能。另一方面，形成淀粉(或糖原)的途径几乎是普遍存在的，但被利用的程度差别很大，这取决于代谢的需要及营养的供给。

我们将开始讨论从丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸的主要合成途径。葡萄糖-6-磷酸在糖原异生作用 (gluconeogenesis) 过程中被利用，这个过程是从诸如丙酮酸、乳酸、某些氨基酸和三羧酸循环中的中间产物等这些前身物合成“新”的葡萄糖。

从丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸的生物合成途径

在从丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸的这一频繁进行的中心途径中，大部分的反应步骤是由酵解序列中的酶类所催化的，所以是通过酵解步骤的逆反应进行的。然而在正常“下行的”酵解途径中，有两个不可逆的步骤不能被由丙酮酸转变为葡萄糖-6-磷酸的“上行的”途径所利用。这些步骤在朝生物合成的方向中被别的旁路反应所代替(图 23-2)，因为这些反应在热力学上是有利的朝着合成方向进行的。

丙酮酸转变为磷酸烯醇丙酮酸

这些旁路步骤中的第一个反应是丙酮酸经磷酸化成为磷酸烯醇丙酮酸。也许因为这个反应的标准自由能变化的正值大，所以它不能通过丙酮酸激酶反应的直接逆过程以任何有效速率发生。



$$\Delta G^\circ = +7.5 \text{ 千卡/克分子}$$

在糖原异生作用时，丙酮酸的磷酸化作用是由一条另外的途径来实现的，此途径是通过某种程度的迂回的反应序列，并且这些反应需要大白鼠和某些其它种属的肝脏中的细胞溶质和线粒体部份的酶类协同作用。(图 23-2)

第一步是由线粒体的丙酮酸羧化酶所催化。我们已知此酶催化主要的回补反应，通过此反应，三羧酸循环的中间产物均可由丙酮酸生成。此反应是完全可逆

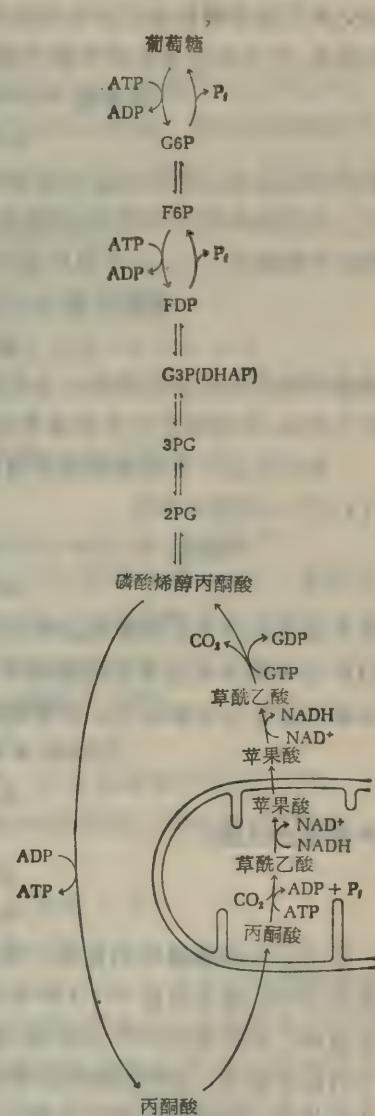
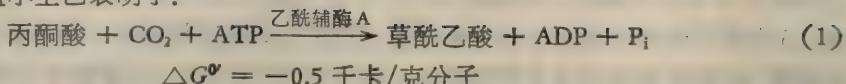
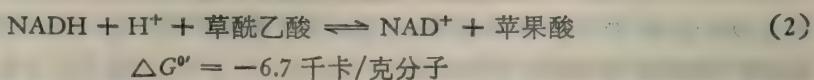


图 23-2 葡萄糖异生作用途径的旁路。
绕过酵解作用的相应步骤的酶促反应
步骤。

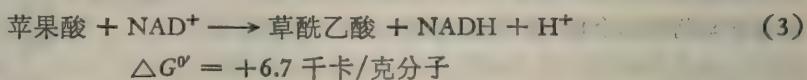
的，这在 ΔG° 值小上已表明了：



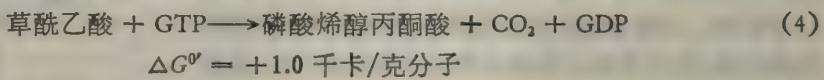
然而，此反应是被严格地调节着，因为丙酮酸羧化酶是一种变构酶，此酶在它的专一的正调节剂乙酰辅酶 A 缺乏时则完全无活性。此反应需要 Mn^{2+} 。在这种线粒体反应中形成的草酰乙酸，消耗 NADH ，被线粒体型苹果酸脱氢酶作用而还原为苹果酸：



由此而形成的苹果酸，通过内层线粒体膜的二羧酸运输系统，以磷酸盐或某些其它二羧酸相交换而离开线粒体。在细胞溶质中，苹果酸被细胞质型的与 NAD 联结的苹果酸脱氢酶再氧化，形成线粒体外的草酰乙酸：

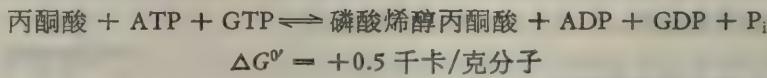


虽然此反应如上面所列出的是强吸能性的，但因最终产物被迅速移去，故此反应向右进行。在旁路的最后步骤中，草酰乙酸受磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶 (GTP) 作用而生成磷酸烯醇丙酮酸和 CO_2 ，在此反应中 GTP (或 ITP) 起磷酸根供体的作用：

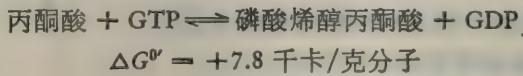


磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶的分子量约为 75,000。由于它与 CO_2 这一有活性的化学物质亲和力很低，故此酶仅只在朝着形成磷酸烯醇丙酮酸的方向中具有生物学活性。

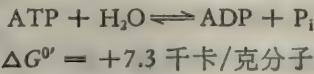
我们现在可将形成磷酸烯醇丙酮酸和自由能量变化的总和一起写成一个总反应式 [(1)至(4)式的总和]：



这个总反应由于其标准自由能变化很小，所以在热力学上来说是可逆的。因此只要 ATP/ADP 比率高并有过量的丙酮酸存在时，此反应就倾向于朝右方进行。可以把此总反应式分解为吸能及放能部分。其需能部分是



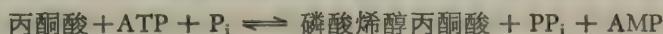
产能的过程是：



一分子的丙酮酸最终消耗两个高能磷酸键而被磷酸化。高能磷酸键一个来自 ATP，一个来自 GTP，每个供应 -7.3 千卡/克分子能量。我们也将看到一些其他例证，在生物合成反应中，仅只形成一个共价键，最终却消耗掉 ATP 的两个或两个以上的高能磷酸键。在大白鼠肝脏中，由丙酮酸形成磷酸烯醇丙酮酸的旁路可用这样一个事实作出估价：即在线粒体中 NADH/NAD^+ 比值比较高，这样一种环境使线粒体内的草酰乙酸容易还原成苹果酸。然而在胞质中 NADH/NAD^+ 比值极低，这样就有利于线粒体外的苹果酸再氧化成为草酰乙酸。因为在大白鼠肝脏中，草酰乙酸不能象这样通过线粒体的膜，所以草酰乙

酸在线粒体中被还原成苹果酸，苹果酸通过一种专一的膜转运系统转运到细胞溶质中，以及在细胞溶质中苹果酸随即再氧化成为草酰乙酸，这些过程均可看作是草酰乙酸从线粒体基质转运到细胞溶质中的一种间接方法。大白鼠以外的其它种动物，特别是豚鼠和兔，在其线粒体和细胞溶质中均发现有磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶 (GTP)，显然此酶的两种类型均参与磷酸烯醇丙酮酸的形成。

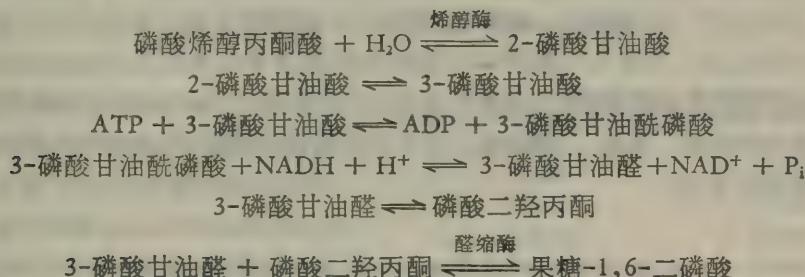
在一些微生物和植物中，丙酮酸转变为磷酸烯醇丙酮酸的磷酸化作用是按完全不同的反应进行的，此反应由丙酮酸正磷酸二激酶来催化，



随后焦磷酸被酶水解为磷酸。

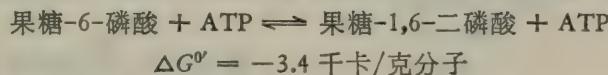
磷酸烯醇丙酮酸到果糖-1,6-二磷酸的转化

通过以上反应由丙酮酸生成的磷酸烯醇丙酮酸，现在很容易沿着酵解作用的逆向反应转变为果糖-1,6-二磷酸，此反应由烯醇酶催化作用开始，而以果糖二磷酸醛缩酶催化作用告终

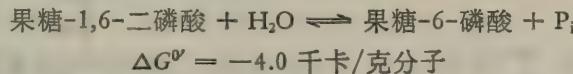


果糖-1,6-二磷酸到果糖-6-磷酸的转化

我们现在讨论葡萄糖异生作用中第二个关键点，在其中，下行酵解程序中的这个反应被一种酶催化走向旁路，此酶主要在朝合成方向进行中起作用。下行酵解反应在此点上是由磷酸果糖激酶所催化的：



它在生物学上不朝逆向起作用，部分是由于不利的 ΔG° 。在葡萄糖异生作用的时候，此反应由细胞溶质中己糖二磷酸酶催化走向旁路，此酶通常称为果糖二磷酸酶，它能使 1-磷酸基团发生根本性的不可逆的水解性移除：

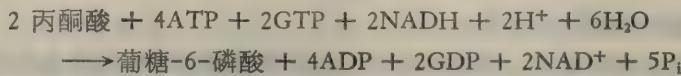


己糖二磷酸酶是一个变构酶，能被阴性调节剂 AMP 强烈抑制，而被 3-磷酸甘油酸和柠檬酸所激活。此酶至少有三个与 AMP 结合的部位，这些部位和与底物结合的部位是不相同的。此酶含有四个或四个以上的亚基。当某些葡萄糖前身物的浓度高和 AMP 的浓度低时，亦即当能荷高时，此酶活性最大；因此有利于葡萄糖的合成。肝脏的己糖二磷酸酶有与糖原异生作用调节有关的其他特性。此酶被溶酶体蛋白酶作用转变为一种最适 pH 为更碱性的形式，这种改变似乎是内分泌调节的结果。

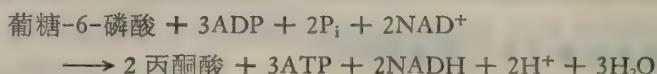
在最后步骤中,果糖-6-磷酸被磷酸葡萄糖异构酶可逆地转变为葡萄糖-6-磷酸,此酶在糖酵解及糖原异生作用中的机能是可逆的。



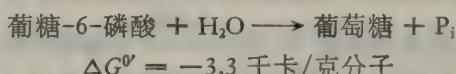
现在我们可将糖原异生作用中,从丙酮酸到葡萄糖-6-磷酸的反应总结如下:



每生成一分子葡萄糖-6-磷酸,需消耗 6 个高能磷酸键并需要 2 分子 NADH 作为还原剂。整个反应是释能的过程。这个反应式显然与将葡萄糖-6-磷酸转变为丙酮酸的下行反应大不相同,后者生成三分子 ATP:



在一些动物组织中,特别是在肝、肾和肠上皮中,葡萄糖-6-磷酸可被脱去磷酸而生成游离葡萄糖;肝脏是生成血葡萄糖的主要部位。葡萄糖-6-磷酸的加水裂解并不由己糖激酶的逆反应所产生,而是由葡萄糖-6-磷酸酶所催化的放能水解反应所致。



在脊椎动物肝脏的内质网状体中,特征地发现有这种依赖于 Mg^{2+} 的酶。此酶的活性有赖于脂类和膜的完整性。葡萄糖-6-磷酸酶不存在于肌肉或脑组织中,故这些组织不能将游离葡萄糖输送到血液中。

三羧酸循环中间产物产生的糖原异生作用

丙酮酸或磷酸烯醇丙酮酸的各种前身物可通过上述从丙酮酸到葡萄糖的途径净合成葡萄糖(图 23-1)。其中主要的是可以氧化成为草酰乙酸的三羧酸循环的中间产物。草酰乙酸然后被磷酸烯醇丙酮酸羧化酶作用而转变为磷酸烯醇丙酮酸。通过此途径,各种三羧酸循环中间产物的三个碳原子最终均可转变为磷酸烯醇丙酮酸的三个碳原子。这

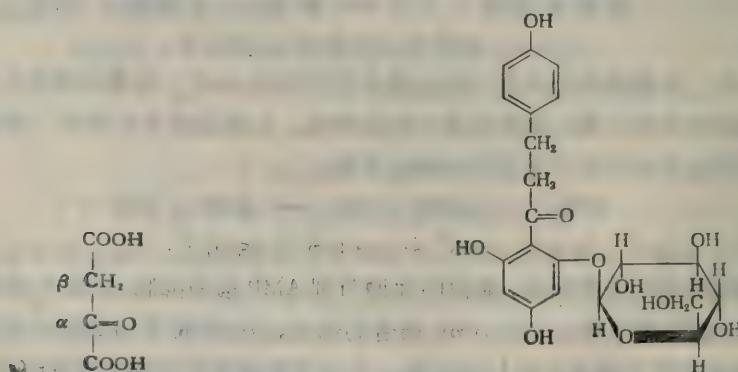


图 23-3 草酰乙酸,用黑体表示的碳原子是磷酸烯醇丙酮酸碳原子的直接前身物。

图 23-4 根皮苷,从梨树的茎皮制成的一种毒性糖苷,此物可使葡萄糖从尿中排出。

些碳原子来自草酰乙酸的 α 羧基, α (羧基) 及 β 碳原子(图 23-3)。此途径已广泛地由许

多在整体动物中以及用组织切片或提取物进行的同位素追踪实验所证实。

已由各种实验方法证实，在整体动物中，三羧酸循环中间产物可净合成新的葡萄糖。在一类实验中，使大鼠禁食 24 小时或更长时间，以使其肝脏中糖原的水平由湿重约 7% 减至 1% 或更低。当以琥珀酸或其它三羧酸循环中间产物喂饲这种禁食的动物时，主要由于肝糖原增加，而使此动物体内糖原的总量净增。这种由三羧酸循环中间产物净转变为葡萄糖的情况也可以在用毒性糖苷如根皮苷（phloridzin，图 23-4）处理的动物中观察到。这种毒物能阻抑从肾小管重吸收葡萄糖至血液中去，因此使血中葡萄糖几乎如数地从尿中排出。以琥珀酸或其他的三羧酸循环中间产物喂饲给根皮苷中毒的动物，使排出的葡萄糖量与喂饲的每个中间产物的三个碳原子量几乎相当。

从氨基酸产生的糖原异生作用

如第二十一章所指出的，在脊椎动物中，某些氨基酸的一些或全部碳原子最后均可转变为丙酮酸或三羧酸循环的中间产物，后者又是磷酸烯醇丙酮酸的前身物。那些像这种亦可作为葡萄糖的前身物的氨基酸称为生糖原的氨基酸。谷氨酸和门冬氨酸即为两个例子。它们通过转氨作用直接转变为三羧酸循环的中间产物， α -酮戊二酸及草酰乙酸。表 23-1 列出了在哺乳动物体内生糖原的氨基酸。也指出那些既是生糖原的又是生酮的氨基酸，例如苯丙氨酸和酪氨酸，它们在降解时裂解成为生糖原的延胡索酸，以及酮体中的一种，即乙酰乙酸。

只有亮氨酸，在它的氧化降解过程中，既不生成丙酮酸，又不生成一种三羧酸循环中间产物。因为此氨基酸只生成乙酰辅酶 A，后者可转变为酮体，但不能转变为丙酮酸，它是一种生酮的氨基酸。

在植物及许多微生物中，并无生糖原与非生糖原氨基酸的区别，因为所有的氨基酸均能通过三羧酸循环及乙醛酸循环的联合反应最后提供葡萄糖的净形成。

表 23-1 哺乳动物体内氨基酸的命运

生糖原的	
丙氨酸	组氨酸
精氨酸	蛋氨酸
天冬氨酸	脯氨酸
天冬酰胺	丝氨酸
半胱氨酸	苏氨酸
谷氨酸	色氨酸
谷氨酰胺	缬氨酸
甘氨酸	
生酮的	
亮氨酸	
生糖原的及生酮的	
异亮氨酸	
赖氨酸	
苯丙氨酸	
酪氨酸	

植物和微生物中从乙酰辅酶 A 产生的糖原异生作用

从较小的前身物净合成葡萄糖，以及仅有一个同位素碳原子从一个标记的代谢产物掺入到葡萄糖中而无新葡萄糖的净合成，辨别此两者是极为重要的。例如，当以标记了碳的乙酸喂饲动物，如某些著作中所示的那样，此同位素的碳原子会掺入至肝糖原的葡萄糖残基中，专一地掺入第 1, 2, 5 及 6 碳原子。然而，从乙酰辅酶 A 的乙酰基团的两个碳原子不能净合成新的葡萄糖。当乙酰辅酶 A 及草酰乙酸的六碳缩合物柠檬酸氧化成为草酰

乙酸时，最后以 CO_2 的形式失去两个碳原子；因此，从柠檬酸并不能比从草酰乙酸合成更多的葡萄糖。并且，在动物组织中，乙酰辅酶 A 不能通过由丙酮酸脱氢酶复合物所催化的反应的逆过程而直接转变为丙酮酸，也不能通过哺乳动物体内所缺乏的乙醛酸循环转变为琥珀酸。高等动物中并不存在有用脂肪酸或乙酰辅酶 A 的碳原子形成新的葡萄糖的代谢途径。

另一方面，植物及许多微生物的确能够从脂肪酸，通过乙酰辅酶 A 的途径净合成糖类，乙醛酸循环反应使这一过程成为可能。按照下列总反应，此循环可使乙酰辅酶 A 净转化为琥珀酸：



此途径需要两种特殊的酶，异柠檬酸裂合酶和苹果酸合成酶；在高等动物中完全缺乏这两种酶。从乙醛酸环所形成的琥珀酸产生草酰乙酸，后者又是磷酸烯醇丙酮酸的前身物。通过此途径，发芽的种子可以将贮存的脂肪转变为葡萄糖。

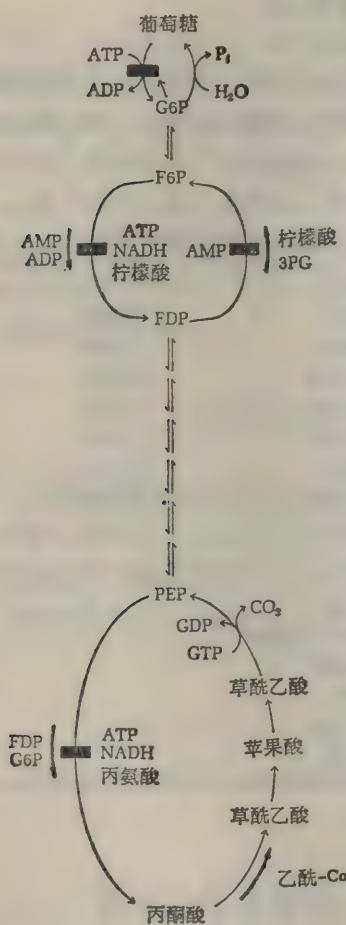


图 23-5 从丙酮酸到葡萄糖（反应用右边向上的细箭头表示）及从葡萄糖到丙酮酸（左边向下的细箭头）两个相反途径的变构调节。阳性或激动性调节剂的作用点以右边向上粗箭头（生物合成途径）或以左边向下粗箭头（降解途径）箭头表示。阴性调节剂的作用点以右边的（生物合成途径）或左边的（降解作用）棒条表示。

糖原异生作用和糖酵解作用的调节

图 23-5 概括了动物组织中在丙酮酸和葡萄糖之间的途径中的控制点。在从丙酮酸到葡萄糖的上行途径中的第一个反应是由一个调节酶，即行使主要控制的丙酮酸羧化酶所催化的。此反应由变构调节剂乙酰辅酶 A 所促进。因此，只要线粒体的乙酰辅酶 A 的产生超过了细胞对燃料的即时需要时，便促进了葡萄糖的合成作用。此途径的第二个控制点是由己糖二磷酸酶所催化的反应。此酶可被葡萄糖前身物柠檬酸和 3-磷酸甘油酸所激活，而被 AMP 所抑制。因此从丙酮酸到葡萄糖的途径是通过呼吸燃料（例如乙酰辅酶 A 和柠檬酸）的水平和 ATP 系统的能荷二者来调节的。

相反，从葡萄糖到丙酮酸的下行途径主要是由变构酶磷酸果糖激酶所调节，此酶可被 AMP 和 ADP 所激活，却被 ATP、柠檬酸和 NADH 所抑制。酵解作用的次要调节点是由己糖激酶所提供的，此酶被葡萄糖-6-磷酸还可能被乙酰-CoA 及磷酸烯醇丙酮酸所抑制。酵解作用的另一调节剂为丙酮酸激酶，此酶被 ATP、NADH 和丙氨酸所抑制，但被果糖-1,6-二磷酸和葡萄糖-6-磷酸所激活。

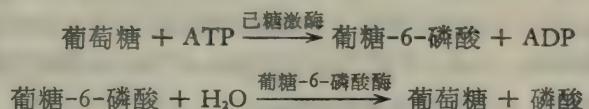
由此我们可见酵解作用和糖原异生作用此二相反途径中的重要调节酶类都居于这两条途径各不相同的那些点上，而提供彼此独立的调节作用。总之，当细胞有充裕量的 ATP 和当呼吸燃料如乙酰 CoA，

柠檬酸或 NADH 均很易获得时, 酶解作用被抑制而糖原异生作用则被促进。反之, 当能荷低或呼吸燃料欠缺, 则酶解作用被加速而糖原异生作用则被抑制。

在酶解作用和糖原异生作用的变构调节之上, 还附加了对这些途径中某些关键性酶类的生物合成的调节作用。给禁食大鼠以过量的葡萄糖, 果糖或甘油, 可抑制其肝中磷酸烯醇丙酮酸羧基激酶的活性; 回想起来, 此酶催化从草酰乙酸形成磷酸烯醇丙酮酸的作用。此效应是由于此酶的生物合成受到阻抑, 可能是因为葡萄糖与磷酸烯醇丙酮酸相比是糖原更为直接的前身物, 当肝有足量的葡萄糖供应时, 就不需要此酶了。另一方面, 喂饲过量的生糖原氨基酸时可加速磷酸烯醇丙酮酸羧基激酶的生物合成, 此酶为这些氨基酸转变为葡萄糖时所需。

无 效 循 环

从图 23-5 所示的反应看来, 在酶解作用和糖原异生作用这两个相反途径中有两点发生无效循环(futile cycles)。这种循环可顾名思义, 在葡萄糖和葡糖-6-磷酸之间两个相反的反应(己糖激酶和葡糖-6-磷酸酶反应)似乎是相互抵消而结果只有 ATP 的净脱磷酸化作用:

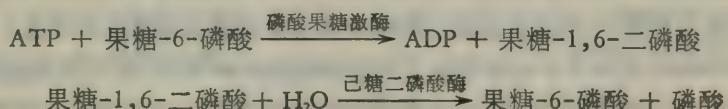


总结:



这样的循环是无效的, 因为此循环除了消耗性地水解 ATP 而外, 未起什么作用。

另一个可能的无效循环是由磷酸果糖激酶和己糖二磷酸酶所催化的相反的反应:



总结:



这样的无效循环表示一种有趣的代谢之谜, 必须为它找出生物学上有意义的答案来。传统地认为无效循环可能在完整的细胞内并不发生, 因为在任何代谢情况下, 每一对中的一个反应要相对地很慢, 而另一个则要快些, 这决定于两个相反的反应的净方向; 无论是朝着乳酸形成, 或者朝着葡萄糖生成的方向。然而, 同位素追踪实验已发现酶解作用和糖原异生作用可同时进行, 有时其速率十分相似, 同时在某些情况下, 无效循环的确在正常肝细胞中发生。虽然某些研究者宁愿相信无效循环是一种不完备的新陈代谢的生物学设计。另一些人则认为此循环有生物学意义。一种想法是它们是逆向代谢途径调节作用的重要因素, 以水解过量 ATP 的方式来补充通常的变构调节, 这在某些情况下是需要的。另一种想法是: 无效循环引起 ATP 的水解可能是用来产生热。实际上, 哺乳动物暴露在低温下时, 参与无效循环的某些酶类(例如己糖二磷酸酶)的活性增高。在无能量贮存机制的情况下, ATP 的净水解作用当然以放热的形式使大量自由能下降。

葡萄糖通过 Calvin 途径的光合生成

在光合作用中，由 CO_2 形成葡萄糖的作用也利用从丙酮酸到葡糖-6-磷酸的主要生物合成途径的部份反应。通过酶促反应，光的能量能以 ATP 磷酸-键能的形式以及以 NADPH 的还原力的形式保存下来，这些酶促反应已在二十二章述及。从光反应中生成的 ATP 和 NADPH 于是被绿色植物细胞利用来使 CO_2 还原以形成糖类和其他的还原产物。植物光合作用的主要最终产物是淀粉、纤维素及其它多糖类。在大多数高等植物组织中，游离的葡萄糖本身并不大量存在。我们将用“己糖”这一普通名称表示在光合成作用中形成的所有游离的及结合的六碳糖残基。

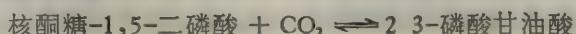
虽然高等动物利用前面述及的酶促反应能将二氧化碳固定为草酰乙酸和其它化合物的羧基碳。但这种反应并不能从二氧化碳最后净合成新的己糖。例如，在丙酮酸羧化酶反应中



随后，在草酰乙酸的三个碳原子变为磷酸烯醇丙酮酸，然后转变为葡萄糖的反应中，原掺入至草酰乙酸中的 CO_2 最终仍以 CO_2 的形式丢失，而且，在动物组织中，丙酮酸氧化脱羧为乙酰辅酶 A 以及 α -酮戊二酸氧化脱羧为琥珀酰辅酶 A，这些反应都是不可逆的，因此不能从 CO_2 净合成葡萄糖。由此，在绿色植物细胞中从 CO_2 净形成己糖的生物合成途径与动物组织中发生的羧化反应有着本质的差别。

M. Clavin 和他的共同工作者关于在光合有机体中从 CO_2 变成己糖这一途径的研究提供了第一个重要的线索。他们将绿色藻类在有放射性二氧化碳 ($^{14}\text{CO}_2$) 存在的情况下进行极短时间(仅只有几秒钟)的光照，然后立即将这些细胞“杀死”，进行提取，并借助色层分析法，寻找最早掺入标记碳的那些代谢产物。最早被标记的化合物之一是酵解中的已知中间产物 3-磷酸甘油酸，同位素碳主要发现在羧基碳原子上。相当于丙酮酸羧基碳原子的这个碳原子在以放射性 CO_2 与动物组织保温时，却未迅速地被标记。

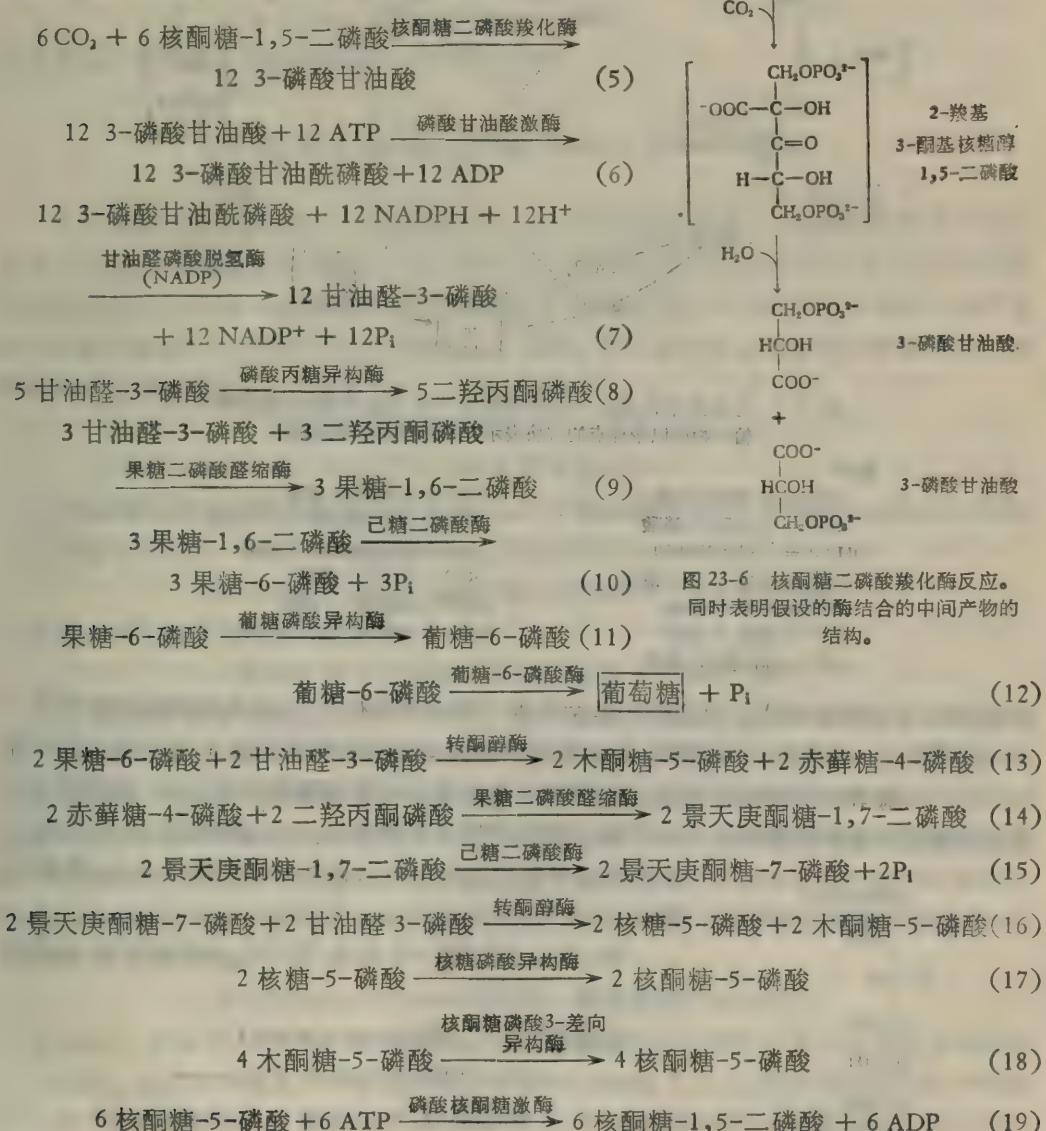
这些发现有力地提示标记的 3-磷酸甘油酸是藻类光合作用中的早期中间产物，特别是因为 3-磷酸甘油酸通过酵解作用的逆过程易转变为葡萄糖。然而在当时并不知道有能力将 CO_2 掺入到 3-磷酸甘油酸的羧基团中去的酶促反应。直到进行了深入的研究后，发现有这样一种酶存在于菠菜叶的提取物中。此酶即核酮糖二磷酸羧化酶，能催化核酮糖-1,5-二磷酸的羧基化及裂解。



形成两分子的3-磷酸甘油酸，其中一个带有以 CO_2 形式掺入的碳原子(图 23-6)。此酶的分子量为 550,000，含有 16 个亚基。2-羧基-3-酮基核糖醇-1,5 二磷酸是此反应中的一个中间产物，推测它是与酶结合的。此反应中的真正底物是 CO_2 ，而不是 HCO_3^- 。与大多数光合植物对 CO_2 的亲和力较高相反，分离出来的酶对 CO_2 的亲和力很低。此酶表现有变构性质，对 CO_2 显示 S 形的活性-浓度曲线并且据报道被果糖-1,6-二磷酸所调节。此酶可被分子氧所抑制：此作用的重要性将在下面述及。核酮糖二磷酸羧化酶在细胞中含量极为丰富，几乎占叶绿体中总蛋白量的 15%。对菠菜叶绿体的电子显微镜观察提示，此酶的各个分子直径约 20 毫微米，均位于类囊体膜之上或其内。

由核酮糖二磷酸羧化酶作用而形成的 3-磷酸甘油酸，可通过上述酵解反应的逆过程和己糖二磷酸酶反应转变为葡萄糖-6-磷酸。

虽然此组反应序列表明葡萄糖中的一个碳原子是如何来自 CO_2 的，但它并不说明这样一个事实，即在光合作用时，己糖的所有六个碳原子最终都来自 CO_2 。Clavin 和他的同事们，为提供这种途径提出了己糖合成的环状机制。Calvin 循环是磷酸葡萄糖酸和酵解序列的修改和延伸；在此环中，每当一分子 CO_2 被还原时，就有一分子的核酮糖-1,5-二磷酸再生成。图 23-7 表示此途径的图解轮廓，其个别步骤在以下一反应序列中表示之。



反应(5)到(12)代表上述的从 CO_2 和核酮糖-1,5-二磷酸形成葡萄糖的途径，而反应(13)到(19)都是与核酮糖-1,5-二磷酸的重新生成有关。反应(12)中的葡萄糖是作为最终产

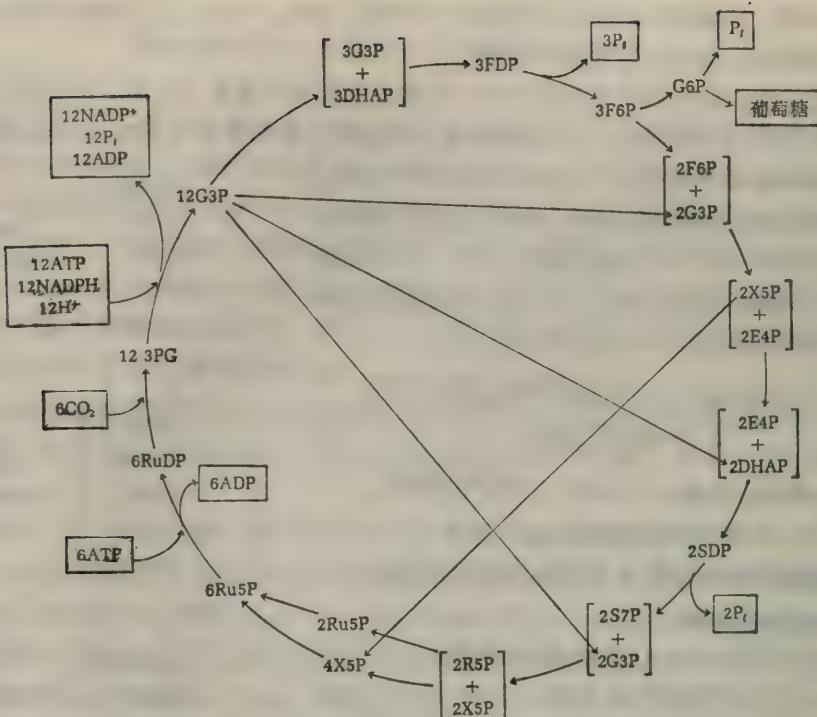


图 23-7 在菠菜叶中,通过 Calvin 循环,从 CO_2 光合作用形成葡萄糖,输入物质以带黑点的方块表示,而产物以方框表示。

图例:

3PG = 3-磷酸甘油酸
 G3P = 甘油醛-3-磷酸
 DHAP = 二羟丙酮磷酸
 FDP = 果糖-1,6-二磷酸
 F6P = 果糖-6-磷酸
 G6P = 葡糖-6-磷酸
 E4P = 赤藓糖-4-磷酸

X5P = 木酮糖-5-磷酸
 SDP = 景天庚酮糖-1,7-二磷酸
 S7P = 景天庚酮糖-7-磷酸
 R5P = 核糖-5-磷酸
 Ru5P = 核酮糖-5-磷酸
 RuDP = 核酮糖-1,5-二磷酸

物形成的,以方框表示之。反应(15)是由己糖二磷酸酶催化的;这是放能的反应因而是一种“牵引”反应。反应(17)和(18)是由核糖磷酸异构酶和核酮糖磷酸 3-差向异构酶所催化。这二种酶早已在前面描述过。反应(19)是由磷酸核酮糖激酶所催化的,此酶在许多方面与磷酸果糖激酶相似。中间产物七碳糖即景天庚酮糖-1,7-二磷酸(图 23-8)在化学及生物化学性质上与它的六碳类似物果糖-1,6-二磷酸相似。

将 Calvin 循环的一个轮迴,用 CO_2 当量来表示,可写成下列总式

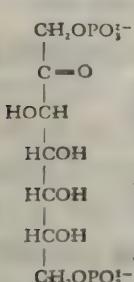
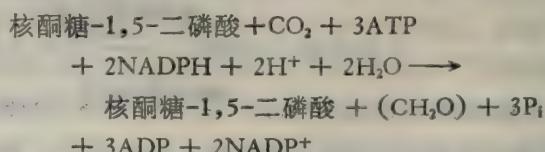
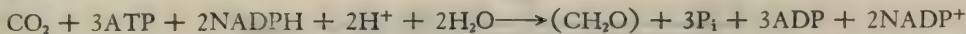
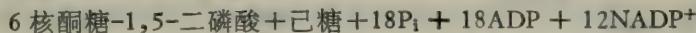
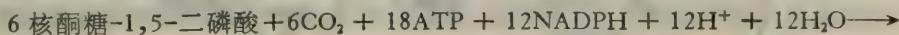


图 23-8 景天庚酮糖-1,7-二磷酸 在此式的两侧均写上核酮糖-1,5-二磷酸仅表示此化合物

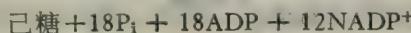
是此循环的必需成分，并且在每次循环的末尾重新生成，若在两侧均消掉核酮糖-1,5-二磷酸，则为



若将 6 次 Calvin 循环（见图 23-7）的反应总括起来可写成总式，将投入的及重新生成的核酮糖-1,5-二磷酸仍表示如下：



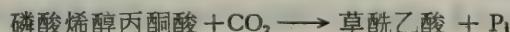
从两侧减去核酮糖二磷酸，则得到净反应式为：



请注意每一分子 CO_2 被还原需要 3 分子的 ATP。

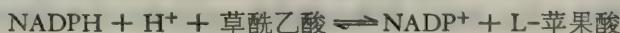
生成葡萄糖的 C_4 或 Hatch-Slack 途径

在本世纪 60 年代中期，已有证据阐明：在一些绿色植物中，3-磷酸甘油酸并不是放射性 CO_2 掺入的最早中间产物。H. Kortschak，其后 M. D. Hatch 和 C. R. Slack，发现在包括甘蔗和玉米这一类植物中，四碳双羧酸类（草酰乙酸，苹果酸和天冬氨酸）似乎是 CO_2 固定的最早产物。现在称这类植物为 C_4 植物。 CO_2 最初在由磷酸烯醇丙酮酸羧化酶催化的反应中被固定。



$$\Delta G^\circ = -6.5 \text{ 千卡分子}^{-1}$$

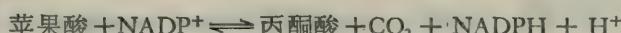
（不要将此酶与磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶（GTP）相混淆）。在 C_4 植物中如此形成的草酰乙酸可被与 NADP⁻ 联结的苹果酸脱氢酶还原成苹果酸：



或通过转氨作用转变为天冬氨酸：



C_4 植物对 CO_2 同化作用的下一步骤，由于涉及两种不同细胞类型的合作而引起注意。 C_4 植物叶中含有两种类型的光合细胞，它们有十分不同的生化的和结构上的机构。维管束鞘细胞，围绕在叶脉周围，而叶肉细胞则疏松地排列在维管束鞘细胞周围。对分离的维管束鞘细胞和叶肉细胞的近代研究证明：上面叙述过的，通过磷酸烯醇丙酮酸羧化酶将 CO_2 固定的作用是在叶肉细胞中进行的。在一些 C_4 植物中，通过草酰乙酸的还原作用形成的苹果酸被转移至维管束鞘细胞中，在那里被苹果酸酶 [苹果酸脱氢酶（脱羧作用）(NADP⁺)] 脱掉羧基：



在其他的 C_4 植物中，由草酰乙酸通过转氨作用而形成的天冬氨酸也最终在维管束鞘细胞中脱羧基。在这两个反应中释放出的 CO_2 于是与核酮糖-1,5-二磷酸作用而产生 3-磷酸甘油酸。此酸通过 Calvin 循环转变为己糖。在维管束鞘细胞中形成的丙酮酸又转回至叶肉细胞中，在消耗了两个高能磷酸基团时转变为磷酸烯醇丙酮酸。于是又开始进行另一个循环。这些热带植物中的 C_4 环被称为 Hatch-Slack 途径。（图 23-9）

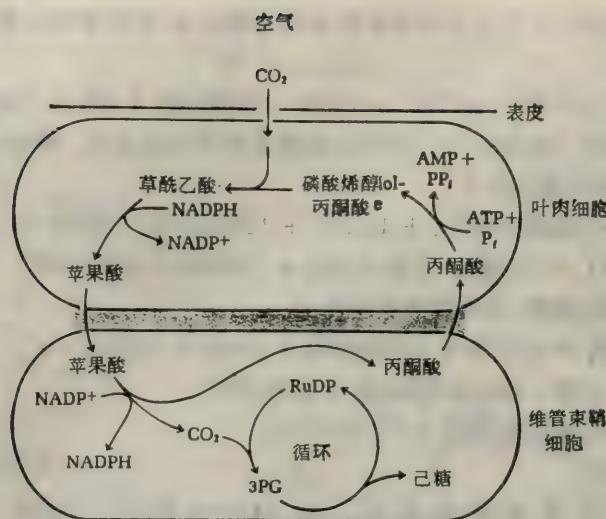


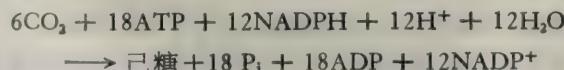
图 23-9 C₄ 植物中固定 CO₂ 的 Hatch-Slack 途径，在叶肉细胞中 CO₂ 最初被固定形成草酰乙酸，后者还原成苹果酸（或通过氨基移换作用形成天冬氨酸）。随后，苹果酸被转送到维管束鞘细胞中去。苹果酸在此处被苹果酸脱氢酶（脱羧作用）脱羧基，形成的 CO₂ 进入 Calvin 循环转变为己糖，由丙酮酸被转送至叶肉细胞中 Hatch-Slack 途径遂得以完成，在叶肉细胞中丙酮酸通过磷酸烯醇丙酮酸而转变为草酰乙酸。

C₄ 植物在一类细胞中以草酰乙酸的形式固定 CO₂，而在另一类细胞中又进行脱羧基和再固定，这样看来似乎是无意义的。然而已证实：在叶肉细胞中 C₄ 途径的磷酸烯醇丙酮酸脱羧酶对 CO₂ 有极高的亲和力，而我们所见 Calvin 途径中的核酮糖二磷酸脱羧酶对 CO₂ 只有低亲和力。叶肉细胞是为高效率地收集 CO₂ 服务，接着即将 CO₂ 运送到维管束鞘细胞中，显然在后类细胞中产生极高的 CO₂ 局部浓度，从而使维管束鞘细胞的核酮糖二磷酸羧化酶很有效地固定 CO₂。值得注意的是，固定每一分子 CO₂ 需要另加两个高能磷酸基团。

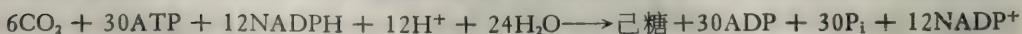
因此就有两大类光合植物：C₃ 植物，主要是温带的植物，它们能直接将 CO₂ 固定成为三碳的 3-磷酸甘油酸；C₄ 植物，主要是热带植物，它们在叶肉细胞中将最初把 CO₂ 固定在草酰乙酸中，随后在维管束鞘细胞中将 CO₂ “再固定”成 3-磷酸甘油酸。如我们将在以下见到的，C₃ 与 C₄ 植物在其他重要的方面也不相同。C₄ 植物包括超过 100 种。其中不仅有甘蔗和谷物，而且还有沙漠植物类，酸苹果植物类，百慕大群岛禾本科植物类，和高粱。

现在我们可对 C₃ 和 C₄ 植物中的光合生成己糖的总反应式加以比较：

C₃ 植物：



C₄ 植物：



因此，C₄ 植物为合成一个己糖单位，较之 C₃ 植物需要的 ATP 要多许多。纵然它们需要额外的 ATP，但如我们现在所见到的，C₄ 植物较之 C₃ 植物，在每单位叶面积中所合成

的己糖要快得多，生长也快多了，在很高的光照强度下的功效也高些。

光呼吸作用

在光合植物中，与己糖生物合成的机制和调节紧密相关的是光呼吸作用的现象。绿色植物细胞含有线粒体和叶绿体；这样的细胞，在黑暗中，消耗在早先光照期由光合作用生成的底物而呈现线粒体呼吸作用和氧化磷酸化作用。问题在于：这些绿色植物细胞在光线下，在活跃的光合作用时也在呼吸呢？还是呼吸停止了呢？仔细测量在光照明的植物中氧和二氧化碳交换的速率，特别是利用同位素氧来测量，表明大多数植物在光线下进行光合作用时确实在进行呼吸。然而，在光线下发生的这一类型的呼吸作用不是线粒体式的呼吸作用，因为它对该过程的有特征性的抑制剂并不敏感。这种“光中”的呼吸称为光呼吸作用。它把光引起的还原力从葡萄糖的生物合成作用转向为氧的还原作用。而且，光呼吸作用并不伴有ADP的氧化磷酸化，因之看来浪费了由光反应所生成的富于能量的还原力。光呼吸作用在温带的C₃植物中是非常活跃的，然而在多数的热带起源的C₄植物中则几乎或完全不存在。

许多的观察指出，在C₃植物中光呼吸作用的主要底物是羟基乙酸（图23-10）。这些植物叶中不仅含有羟基乙酸，而且还含有能利用分子氧以氧化羟基乙酸成为乙醛酸有很高活力的酶，称为羟基乙酸氧化酶，此酶是一种黄素氧化酶。此酶既不存在于线粒体中，也不存在于叶绿体中，而位于微体或过氧化物酶体中。羟基乙酸的氧化产生过氧化氢，后者被存在于过氧化物酶体中的过氧化氢酶所分解。乙醛酸进一步代谢成为其他产物，如甘氨酸、草酸、甲酸或CO₂，决定于种的不同。

虽然对上述的大部分早已知道，但直到最近才证实羟基乙酸的来源。可回想起核酮糖二磷酸羧化酶被分子氧抑制的事实。这种抑制作用看来是在氧分压高而CO₂压力低时，作为调节CO₂固定作用的机制。而且，随后的研究证明：在核酮糖二磷酸羧化酶反应中分子氧确能取代CO₂，结果不是使核酮糖二磷酸进行羧化而是使它进行氧合作用，并生成磷酸羟基乙酸和3-磷酸甘油酸（图23-11）。随后所生成的磷酸羟基乙酸进行酶水解作用生成游离的羟基乙酸，即光呼吸作用的底物。

在C₃植物中光呼吸作用的速率是相当高的，约为黑暗处呼吸作用速率的5倍。由于它引起CO₂的还原产物的氧化，而这种产物的合成又已经消耗了NADPH和ATP，显然它是一个耗费的过程。在C₃植物中，在正常的大气情况下光合作用的净速率由于受空气中

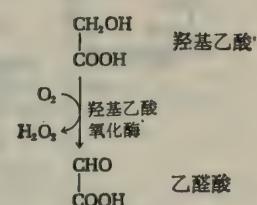


图23-10 在光呼吸作用时
羟基乙酸的氧化。

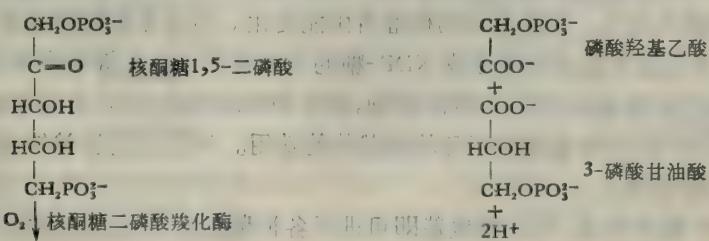


图23-11 从核酮糖-1,5-二磷酸生成磷酸羟基乙酸

相当高的氧浓度和较低的 CO_2 浓度所限制，显然比最大速率为低。 C_4 植物只有极少或全无光呼吸作用，由于它们能在相当低的 CO_2 浓度和较高的氧张力下通过 Hatch-Slack 途径（氧不能使此途径转向）进行光合作用，故其效率显然高些。 C_3 植物中光呼吸作用的精确机能仍然是一个谜。现在正以相当大的力量，通过减低光呼吸作用的速率，或应用抑制剂，或用 C_3 和 C_4 植物的杂交育种法，以增进 C_3 作物的效能。

从葡萄糖-6-磷酸开始的生物合成途径：核苷二磷酸糖类

我们现在已知动物和植物中葡萄糖和葡萄糖-6-磷酸是如何从简单的前身物形成的。我们将追踪从葡萄糖-6-磷酸开始到下列各物的生物合成途径：(1) 其它的己糖和己糖衍生物；(2) 双糖；(3) 贮存多糖，以及(4) 细胞壁、细胞外膜和细胞间隙的复杂结构多糖。在这些途径中，己糖残基常须转变为己糖衍生物，或转移至其它的单糖或至多糖链的末端。这些反应表现出一个共同的模式，在这种模式中它们使用一种核苷二磷酸糖 (NDP-糖) 作为能量化了的糖基供体。NDP-糖的一个范例为尿苷二磷酸葡萄糖。(图 23-12)

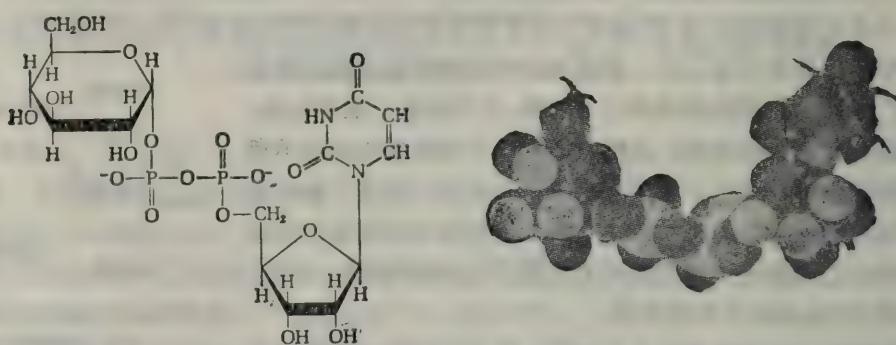


图 23-12 尿苷二磷酸葡萄糖的结构和实体模型。

核苷二磷酸糖的作用是由布宜诺斯艾利斯的 L. F. Leloir 及其同事首先发现的。他们指出一个核苷三磷酸，例如 UTP，与一个己糖-1-磷酸作用生成一个核苷二磷酸糖（图 23-12），此反应由通常称为糖基-1-磷酸核苷酸转移酶（或其老的、不常用的名称为焦磷酸化酶）的酶类所作用：



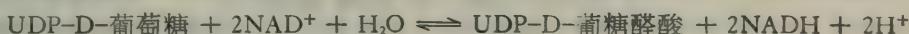
生成的焦磷酸来自 NTP 的两个末端磷酸基团。NDP-糖中有两个键在水解时具有很大的负性 ΔG° ，一个键在两个磷酸基团之间，一个键在 NDP 部分的末端磷酸和糖基之间。在核苷酸转移酶反应中，仅有小的标准自由能变化。但是焦磷酸酶随后对无机焦磷酸的水解作用，牵拉这个反应朝向形成 NDP-糖的方向进行。在高等动物中，尿苷二磷酸虽经常作为特殊的糖基载体，而在不同的植物、微生物和动物组织中，在各种酶促糖-转移反应中，ADP、CDP 和 GDP 也具有特殊的糖载体的功用。我们从这里就知道核苷酸提供的另一个重要生化功能。

一旦 NDP-糖已形成，它的糖残基即可进行各种酶促反应，包括氧化作用，还原作用，差向异构作用，以及转移至其他糖类或糖聚合物类。

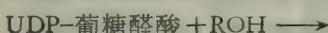
从 UDP-葡萄糖生成单糖衍生物

我们早已知道 D-葡萄糖-6-磷酸能够转变为 D-果糖-6-磷酸，随后又转变为 D-甘露糖-6-磷酸；这些反应并不需要 NDP-糖作为中间产物。然而，在动物组织中 D-葡萄糖转变为其他己糖或己糖衍生物的几乎所有其它途径都是通过 UDP-葡萄糖而进行的。

UDP-D-葡萄糖是葡萄醛酸的前身物，此酸是一些多糖类的重要建筑原料，并且也是抗坏血酸或维生素 C 的前身物。UDP-D-葡萄糖被 UDP-葡萄糖脱氢酶作用氧化成为 UDP-D-葡萄醛酸[图 23-13]：



在此反应中有两次氧化步骤发生，一次是氧化碳原子 6 上的羟基变成醛基，第二次氧化此醛基变成羧基。在动物组织内 UDP-D-葡萄醛酸是为各种受体分子如外来的酚类和胺类提供葡萄醛酸残基的供体，此作用是由肝脏中的 UDP-葡萄醛酸转移酶所催化的，其一般催化反应为：



R-O-葡萄糖苷酸 + UDP

此处 ROH 是外来的酚。此反应作为去毒和（或）促使外来的包括各种药物在内的酚类及胺类的排出。酚在一些动物体中是以酚葡萄糖苷酸的形式排出的。（图 23-13）

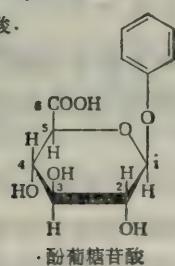
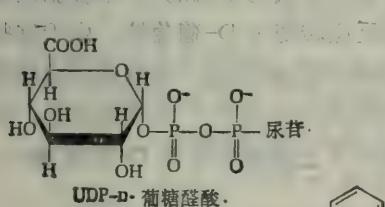


图 23-13 UDP-D-葡萄糖醛酸在形成多糖类和葡萄糖苷酸类时作为 D-葡萄糖醛酸残基的供体。葡萄糖苷酸是许多外来的醇类、酚类和胺类的排出形式。上面所示为一典型的葡萄糖苷酸。

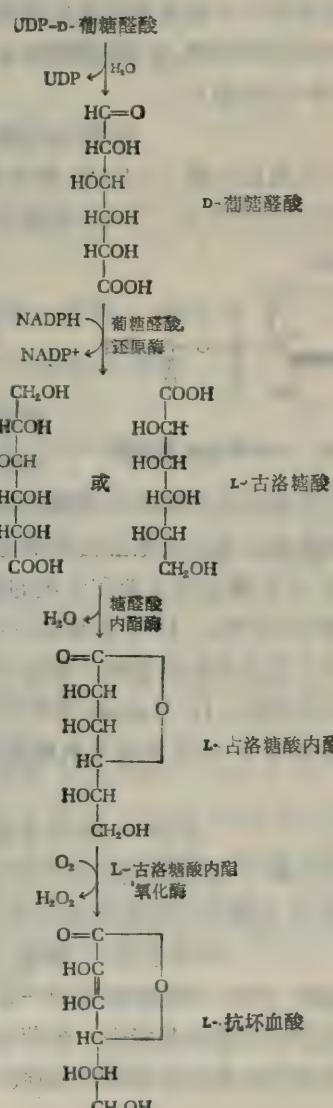


图 23-14 L-抗坏血酸的酶促合成

从 UDP-D-葡萄醛酸被酶水解后生成游离的 D-葡萄醛酸是 L-抗坏血酸(维生素 C)的生物合成前身物,此反应在植物以及所有的脊椎动物(除人、猴类、豚鼠和印第安果蝠以外)的肝脏中进行。D-葡萄醛酸首先还原为 L-古洛糖酸,后者在内酯酶存在时内酯化成为 L-古洛糖酸内酯。然后再进一步氧化成为 L-抗坏血酸。(图 23-14)

核苷二磷酸糖类也可进行还原生成脱氧糖类的核苷二磷酸衍生物,例如 L-岩藻糖和 L-鼠李糖,这些均为细菌细胞壁的脂多糖的重要成分。这种反应之一为:



半乳糖代谢: 半乳糖血症

动物体中一个很重要的反应是通过 UDP-D-葡萄糖中葡萄糖残基的第 4 个碳原子上发生酶促差向异构作用,使 D-葡萄糖残基可逆转化为 D-半乳糖残基而形成尿苷二磷酸 D-半乳糖(UDP-半乳糖):



由于催化此反应的酶——UDP-葡萄糖 4-差向异构酶绝对需要有 NAD, 故认为此差向异构化作用是由两个步骤发生的:

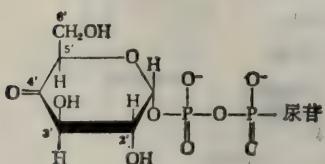
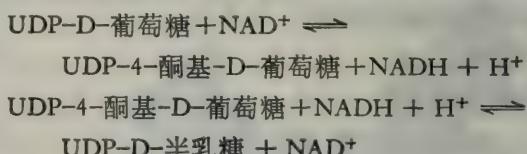
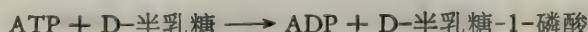


图 23-15 UDP-4-酮基葡萄糖



假设的 4-酮基葡萄糖(图 23-15)中间产物,能在酮基团处接受一对氢形成任一差向异构体,此中间产物在催化循环中仍然紧密地与酶的活性部位相结合。此反应中形成的 UDP-半乳糖是乳腺中生物合成双糖乳糖以及合成糖蛋白的含有半乳糖-低聚糖侧链所需要的前身物(见下面)。

UDP-半乳糖也是乳糖和乳类的糖在肠道中被酶水解而形成的游离的 D-半乳糖代谢中重要的中间产物。D-半乳糖在肝中通过两个系列的反应转变为 D-葡萄糖。由于这些反应受到人类遗传缺陷影响,导致不同类型的遗传性疾病半乳糖血症。故这些反应受到人们很大的注意。H. Kalckar 及其他研究者对半乳糖的生物化学进行了详细的分析。在肝脏中游离的 D-半乳糖被半乳糖激酶作用首先在碳原子 1 上磷酸化生成 D-半乳糖-1-磷酸:



生成的半乳糖-1-磷酸能通过两个可能反应中的一个转变为 UDP-半乳糖。次要的途径是由半乳糖-1-磷酸尿苷酰转移酶所催化



如此形成的 UDP-半乳糖被 UDP-葡萄糖 4-差向异构酶作用通常转变为 UDP-葡萄糖。这些反应使半乳糖残基能进入葡萄糖代谢的主要途径,如我们将会见到的,是因为 UDP-葡萄糖能将它的葡萄糖残基供给糖原。这种尿苷酰转移酶在成人肝中含量较高,而在婴儿则缺乏。

利用游离半乳糖的第二个途径也是从半乳糖 1-磷酸开始的。由己糖 1-磷酸尿苷酰

转移酶催化以下反应：



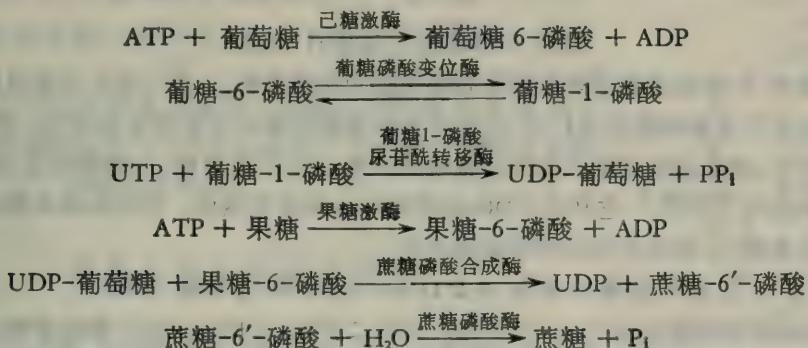
这种特殊的酶存在于正常胎儿肝脏中，但在患有某一类半乳糖血症的婴儿中则缺乏。这样的婴儿因此不能通过任一途径来利用半乳糖。半乳糖血症的婴儿在血中有过高浓度的D-半乳糖并且受到眼晶状体白内障（混浊）和精神失调的损害。在婴儿和儿童期的膳食中不给吃奶和其他有半乳糖来源的食物可成功地治疗此症。

第二种类型的半乳糖血症的情况要轻些，但也有发展成白内障和盲症的特征，此症是由于遗传性缺陷而丧失半乳糖激酶生物合成能力所致，此酶是使半乳糖磷酸化所必需的，以便它能进入任一半乳糖途径。在半乳糖血症的己糖-1-磷酸尿苷酰转移酶缺陷和半乳糖激酶缺陷的两种类型中，白内障是由于一种糖醇一半乳糖醇的积聚所致，在晶状体中此物是由醛糖还原酶作用于D-半乳糖而生成的：



双糖及其它糖苷的生物合成

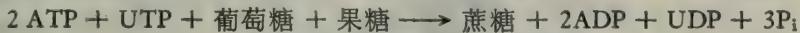
在一些植物，例如甘蔗中，蔗糖是由葡萄糖及果糖通过以下一系列的反应形成的，此反应利用 UDP-D-葡萄糖作为中间产物：



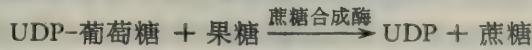
总括以上反应得：



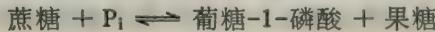
如果所生成的焦磷酸水解成为 P_i ，则总反应式为



因此形成蔗糖的单个糖苷键（其水解作用的 ΔG° 约为 -5.5 千卡/克分子）需要三个高能磷酸键。所以从葡萄糖和果糖合成蔗糖的总反应是不大可逆的。推测这组反应的强放能性质，使甘蔗可从很稀的单糖前身物形成一种含有高浓度的蔗糖汁。在其它的植物中，蔗糖是通过利用果糖，而不是利用果糖-6-磷酸作为葡萄糖基受体的一种反应而形成的：



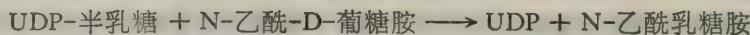
某些细菌含有蔗糖磷酸化酶可催化下列可逆反应



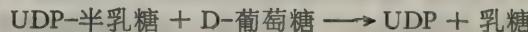
在细胞内条件下，此反应通常催化蔗糖的分解。

在乳腺中，乳糖这种双糖是由 D-葡萄糖及 UDP-半乳糖通过两种酶蛋白质的作用而

生成的。这两种酶蛋白质共同组成乳糖合成酶系统。第一种，蛋白质 A，存在于乳腺中，也存在于肝脏及小肠中，催化一种在 UDP-半乳糖与多种受体，特别是与 N-乙酰-D-葡萄糖胺之间的反应：



因为蛋白质 A 对 D-葡萄糖的 K_m 值很高，当 D-葡萄糖作为受体时，单有蛋白质 A 仅有微弱的作用。第二种成分，蛋白质 B，长时间以来通称为乳汁的 α -乳清蛋白；它本身并无催化活性。已发现这种蛋白质能显著地降低蛋白质 A 对 D-葡萄糖的 K_m 值，因此，酶将利用 D-葡萄糖优先于 N-乙酰-D-葡萄糖胺作为半乳糖受体，使产生乳糖而不是 N-乙酰乳糖胺：



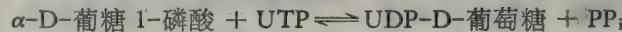
α -乳清蛋白在另一方面也值得注意：即其氨基酸顺序与溶菌酶的是极为相似。这是由 R. L. Hill 和他的同工作者发现的。

糖原和淀粉的合成以及核昔二磷酸糖类的作用

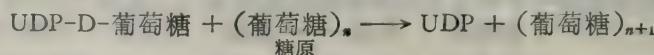
从葡萄糖 6-磷酸到生成贮备于动物中的聚合糖原及高等植物中的淀粉，经历一个很繁忙的生物合成途径。此途径开始是在磷酸葡萄糖变位酶的催化下将葡萄糖 6-磷酸转变为葡萄糖 1-磷酸：



我们已知葡萄糖-1-磷酸是糖原降解酶即磷酸化酶的作用产物。曾一度认为糖原磷酸化酶对糖原的合成及降解均有催化作用，因为在体外磷酸化酶反应是容易逆转的。然而，在细胞内的条件下，糖原磷酸化酶仅能催化糖原的分解。为了将葡萄糖-1-磷酸转变为糖原，一种不同的酶参与了作用。它利用 UDP-葡萄糖作为葡萄糖基供体。在动物体中糖原合成的第一步是由葡萄糖-1-磷酸尿苷酰转移酶催化的：



UDP-D-葡萄糖的结构如图 23—12 所示。在第二步中，UDP-D-葡萄糖的葡萄糖基被转移到一条直链淀粉链上的非还原性末端的最后一个葡萄糖残基上，在加上去的葡萄糖基的第一个碳原子与链的最后一个葡萄糖残基的 4'-羟基之间形成一个 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 糖苷键。此反应是由糖原合成酶所催化的。



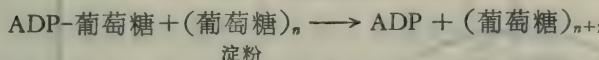
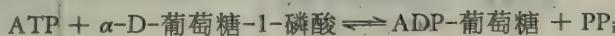
此反应步骤的 ΔG° 约为 -3.2 千卡/克分子。从葡萄糖 1-磷酸开始，并假定无机焦磷酸被完全水解，插入一个葡萄糖残基的总 ΔG° 约为 -10 千卡/克分子。因此总平衡极有利于糖原的合成。

糖原合成酶需要一条至少有四个葡萄糖残基的 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 多聚葡萄糖链作为引物，将葡萄糖基相继地加到此引物上；然而当用长链的葡萄糖聚合物，例如直链淀粉作为引物时，此酶最活跃。在高等动物体中 UDP-葡萄糖是最活跃的葡萄糖基供体；ADP-葡萄糖只有其活性的约 50%。然而，在一些低等生物体中，ADP-葡萄糖是糖原合成酶的优先作用底物。哺乳动物肝脏和肌肉的糖原合成酶含有 4 个亚基，其总分子量约为 360,000。此酶通常与细胞内的糖原颗粒相伴存。

糖原合成酶不能制造糖原分支点上出现的 $\alpha(1 \rightarrow 6)$ 键。然而，在许多动物组织中有一种 $1,4-\alpha$ -葡聚糖分支酶能催化一个具有 6 个或 7 个葡萄糖残基的末端低聚糖碎片，从糖原主链的末端至同一个或另一个糖原链上的一个葡萄糖残基的 6-羟基上的转移。以这样形成一个 $\alpha(1 \rightarrow 6)$ 键，并由此创造一个新的分支点。（图 23-16）

在人类中有几种糖原代谢的遗传性混乱已被认识，在这类疾病中，特别是在肝脏中，有异常大量的糖原积聚。对用外科活组织检查得到的小块组织样品进行化验已查出这类病人具有遗传性缺陷的酶类。在这类疾病中有一种 von Gierke 氏病，其葡萄糖-6-磷酸酶的活性有缺损。在 Andersen 氏病中，分支酶有缺损，且糖原有异常长的且不分支的链。在 McArdle 氏病中，肌糖原磷酸化酶有缺损，引起肌肉中有过量的糖原沉积。在 Cori 氏病中，缺少脱分支酶。

在植物和一些细菌中，淀粉是由一种淀粉合成酶催化的与糖原的合成相似的途径所合成的。但是在许多植物中，较活跃的葡萄糖供体是 ADP-葡萄糖，而不是 UDP-葡萄糖。其作用顺序为：



这些反应的最初步骤是由葡萄糖 1-磷酸腺苷酰基转移酶催化的。这种变构酶是由 CO_2 光合还原的早期产物 3-磷酸甘油酸及果糖-1,6-二磷酸所激活的。

糖原合成和断裂的调节

糖原合成酶，象糖原磷酸化酶一样，是通过变构的和共价的修饰两者而受到调节。糖原合成酶以两种型式存在。磷酸化型本身是无活性的，然而此型能被变构调节剂葡萄糖-6-磷酸的存在所激活，因此称为 D 型或依赖型。此 D 型酶中的磷酸基团受磷酸蛋白磷酸酶的作用生成脱磷酸型或活化型的糖原合成酶。此型并不需要葡萄糖-6-磷酸，因此被称为 I 型或独立型。糖原合成酶的脱磷酸化作用本身能被糖原——一种阴性变构调节剂所抑制。I 型糖原合成酶可被蛋白激酶钝化，此酶能消耗 ATP 而使几种不同的蛋白质磷酸化。前述的一个例子是使磷酸化酶激酶的无活性型激活。其他的例子已在别处描述。蛋白激酶依次又被环腺苷酸变构地活化。环腺苷酸的形成是由于某些激素，例如肾上腺素和胰高血糖素，与在细胞膜上特殊的受体部位结合的结果。

虽然在糖原合成酶的有活性型和无活性型之间通过加上或失去磷酸基团而相互转变的作用，与糖原磷酸化酶的情况相似，但糖原合成酶调节循环的净效果与糖原磷酸化酶的正相反，如图 23-17 所示。请回忆磷酸化酶 a，此酶的磷酸化型是很活跃的，而脱磷酸

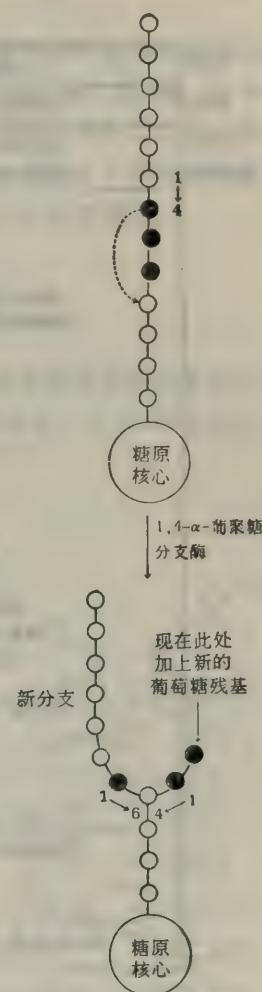


图 23-16 糖原被 $1,4-\alpha$ -葡聚糖分支酶作用，形成一个分支。

型，即磷酸化酶 b 则无活性。除非 AMP(这是一种阳性变构调节剂)存在时则例外。磷酸化酶 a 被磷酸化酶磷酸酶脱磷酸，结果生成磷酸化酶 b，后者被磷酸化酶激酶再磷酸化成为活性型。此酶也存在有活性型和无活性型，或者说磷酸化型和脱磷酸型。无活性型通过蛋白激酶的作用被 ATP 所激活。蛋白激酶也可直接磷酸化糖原合成酶使其失活。

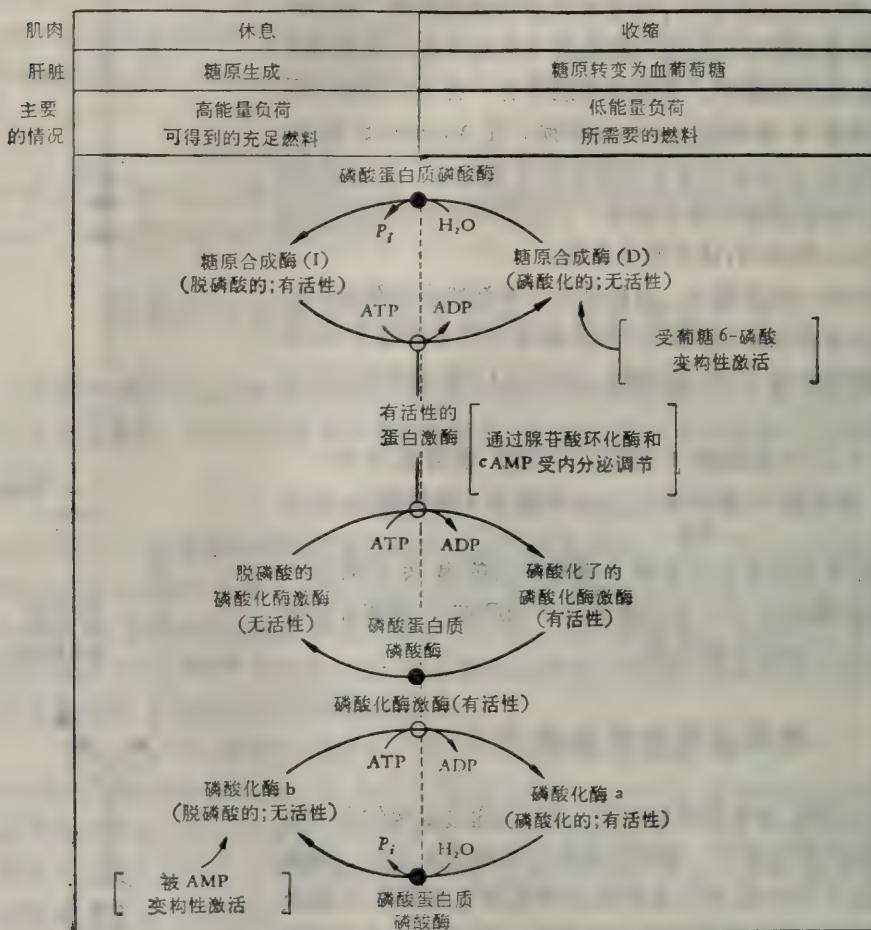


图 23-17 在哺乳动物的肝脏和肌肉中，糖原合成和分解的变构性和共价性调节的总结。腺苷酸环化酶 cAMP、蛋白激酶和激素受体均在别处描述过。

糖原的合成和利用的调节是与糖酵解作用和三羧酸循环的调节机制紧密衔接的。以高浓度的葡萄糖-6-磷酸反映出的葡萄糖过量或者以一种高能荷反映出的其他燃料供应充足，趋向于打开糖原合成酶而关闭糖原磷酸化酶，结果在肝脏和肌肉中引起以糖原形式贮存葡萄糖。相反地，如在肌肉工作时，由于能荷低而需要燃料时，或者当血葡萄糖浓度低，糖原磷酸化酶被激活和糖原合成酶被抑制时，这样就引起肝糖原分解产生血葡萄糖，和肌糖原分解产生葡萄糖-6-磷酸作为酵解作用的燃料。

在这些糖原合成酶和糖原磷酸化酶（这些酶反映葡萄糖-6-磷酸和能荷的水平）的控制作用之上，还有另一套控制作用涉及激素特别是肾上腺素，高血糖素和胰岛素的调节，它

们的效应是由 cAMP 或 cGMP 或其它因素来调节的。这些激素对他们靶组织中的特殊受体的作用和对糖原代谢内分泌调节的放大级联 (amplification cascades) 均在别处小结。

糖原中葡萄糖残基的转换

糖原存在于如肝脏和骨骼肌这些组织内的微小颗粒中；这些颗粒也含有紧密结合的糖原磷酸化酶和糖原合成酶。肝糖原的葡萄糖残基进行经常的非常快的转换，因为大量的葡萄糖和其它己糖从小肠到达肝脏，在经过暂时地以糖原贮存后，又再以血糖的形式离开肝脏。并非糖原的高度分支结构的所有部份都以同样的速率转换。大多数葡萄糖残基的转换发生在外周分支，而糖原的内核结构代谢较为稳定，其转换速率很低。

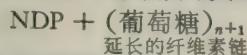
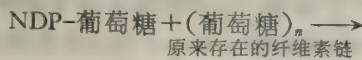
细胞壁和外膜的结构多糖类

在细胞壁和外膜的结构多糖类的生物合成中，较之贮存的多糖类有更为复杂的合成途径。一些细胞壁和细胞外膜多糖类是杂多糖类，而不是同多糖类。而且，前身物或中间产物必须通过细胞膜被挤压出去并集合在细胞的外边。

如同在糖原合成作用中一样，在细胞壁和外膜的生物合成中，核苷二磷酸糖类起着糖基供体的作用：糖基单位是被加在原来存在的多糖分子的一个末端，使之延长一个单位，并释放出游离的核苷二磷酸。前身物从细胞内被挤压出，以及在膜外边壁的装配均受到膜内脂类中间产物(即长的、类异戊二烯醇的磷酸酯)参与的影响。这些物质象手臂似地携带着亲水的糖残基穿过细胞膜。生物合成的这一领域仍然是一个未经充分研究的新阵地，它在分析细胞从其内部生成的前身物完善地建成其外壁及外膜的谋略方面，提出许多难题。

植物的细胞壁；昆虫外骨骼

植物细胞壁的主要结构多糖——纤维素是一种 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 葡聚糖。在一些植物中，纤维素是从 GDP-葡萄糖合成的，而在其他的植物中则经纤维素合成酶作用由 UDP-葡萄糖合成：



植物木聚糖在 D-木糖残基之间含有 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 链，

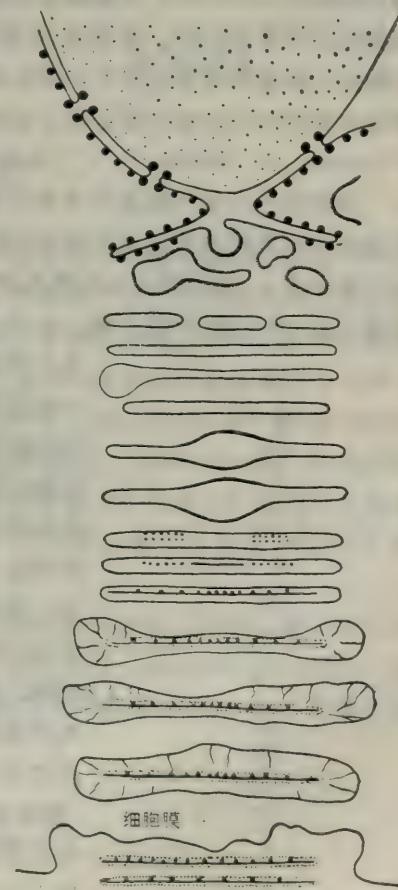
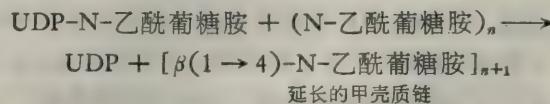


图 23-18 高尔基泡把预先制好的细胞壁节段运输到植物细胞外面时的作用

是由 UDP-D-木糖通过类似的反应形成的。植物细胞壁也含有其他复杂的物质，例如半纤维素、果胶、木素和糖蛋白即伸展蛋白。对这些附属物质的生物合成了解较少。在一些植物细胞中，细胞壁的短节是在细胞体内部，在由高尔基体产生的膜泡囊内预先制成的。已完成的节段于是从细胞内被挤出并附着在膜外面的壁结构上。（图 23-18）

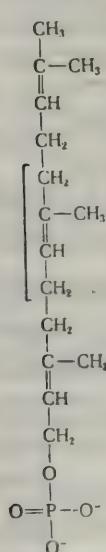
甲壳质(chitin)，存在于昆虫外骨骼中的一种 N-乙酰葡糖胺的 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 同聚物，是由在甲壳质合成酶所催化的一种反应中从 UDP-N-乙酰葡糖胺所合成的：



动 物

存在于动物组织的细胞间隙和在动物细胞的柔韧的外膜中的各种不同类型的多糖均已在别处描述。透明质酸，这一最简单的粘多糖是细胞间的基本物质或细胞间的“填充物”的主要成分。透明质酸是由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰葡糖胺残基交替组成的：它是通过 UDP-葡萄糖醛酸及 UDP-N-乙酰葡糖胺在链的增长末端进行连续的交替反应而形成的，与同多糖类生成的方式相似。软骨素，皮肤素和硫酸角质素亦均通过类似的方式形成。然而，这些酸性粘多糖类通常以共价与多肽链相联(连)成为糖蛋白或蛋白质-多糖类。虽然这些糖蛋白的结构和生物合成是极为复杂的。但其主要酶促反应的某些步骤已在 A. Dorfman, S. Roseman, R. Jeanloz, E. C. Heath 和其他研究者的实验室中做出来了。

动物细胞外膜的糖蛋白含有许多低聚糖基团，与它们多肽链上的天冬酰胺，丝氨酸，苏氨酸或羟基赖氨酸以共价相连。现认为这些低聚糖基团的一部份是在细胞内，在高尔基体中制造的；一部份是在细胞膜外面制造的。低聚糖侧链的合成是在高尔基膜处开始，这是通过 D-半乳糖 D-葡萄糖，或 D-木糖的 DNP 衍生物的作用将蛋白质的氨基酸残基糖



基化作用而进行的。不同的单糖残基连续加上去，以一种专一的顺序来延伸低聚糖侧链。这顺序是由糖基转移酶的活性部位的专一性来决定的。虽然核苷二磷酸糖是单糖单位的最基本的供体，但有一些单糖是通过脂类中间产物的介入是直接加到生长着的低聚糖的侧链上去的。Leloir 及其同事们已证明这些动物组织的脂类中间产物是长链的、不饱和的类异戊二烯醇类(类异戊二烯醇)，被称为多萜醇，它含有 16 到 21 个类异戊二烯单位，因此可有 84 个碳原子长(图 23-19)。多萜醇以游离的或磷酸化的形式(多萜醇磷酸)存在于内质网和高尔基体的膜中，但不存在于线粒体膜或原生质膜中。在下列反应中，多萜醇磷酸消耗了核苷二磷酸糖而被糖基化：

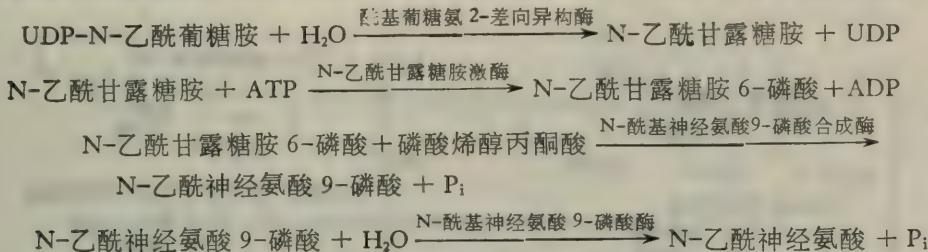
多萜醇磷酸 + CDP-甘露糖 \longrightarrow 多萜醇磷酸甘露糖 + CDP
然后甘露糖残基被转移到糖蛋白的生长着的低聚糖侧链的末端上去：

多萜醇磷酸甘露糖 + 低聚糖 \longrightarrow 多萜醇磷酸 + 延伸的低聚糖

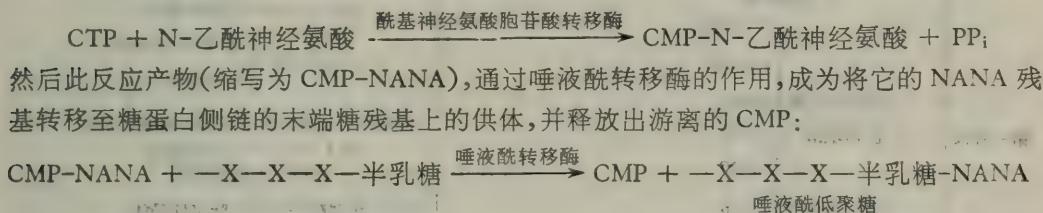
图 23-19 多萜醇磷酸

维生 A 或称视黄醇, 它们的磷酸盐或焦磷酸盐, 在相似的反应中似乎也可以起运糖的脂类中间产物的作用。

用作动物细胞外膜神经节苷脂及糖蛋白的低聚糖链的末端残基的唾液酸或 N-酰基神经氨酸是由葡萄糖胺衍生而来的。下面的反应顺序表示 N-乙酰神经氨酸的生成：



N-乙酰神经氨酸（缩写为 NANA）被制备出来为与低聚糖和多糖进行反应以形成 CMP 的衍生物：



粘多糖过多症

人类中有许多遗传性疾病称为粘多糖过多症类，患者有某些粘多糖类过量地积聚在组织中。骨质缺损和严重的智力迟钝是主要的症状。问题是：这些粘多糖类的过量沉积究竟是由于异常的高速合成呢，还是由于异常的低速率分解的结果。对于粘多糖代谢的复杂的生物合成的和降解途径进行了深入的研究，已得知这些混乱可能是由于为各种不同的粘多糖降解作用所需的专一的水解酶类有遗传性缺乏之故。在 Hurler 病或称为脂肪软骨营养不良的情况，最明显的异常是奇异的面容，骨缺损，智力迟钝，腹部膨大和角膜混浊。过量的硫酸皮肤素和硫酸乙酰肝素沉积于结缔组织细胞中和积聚于肝脏的高尔基囊体和溶酶体中。已发现，催化这些粘多糖降解作用的一个主要步骤的水解酶 α -L-艾杜糖醛酸酶缺乏。

Hunter 氏病与 Hurler 氏病相似，但在遗传上不同，硫酸皮肤素及硫酸乙酰肝素也积聚，显然是由于遗传性地缺少一种专一的硫酸酯酶。另一型缺少硫酸酯酶的疾病为 A 型 Sanfilippo 综合症。在此症中硫酸乙酰肝素积聚。所有这三种疾病中似乎 β -半乳糖苷酶都较少或缺如。

细菌的细胞壁

细菌的细胞壁聚合物的生物合成吸引了许多研究者，这不仅由于这些聚合物的结构

复杂，并且因为青霉素和其他抗菌素抑制细菌中细胞壁的生物合成。

细菌细胞壁的肽聚糖或胞壁质已在第十章以及前面描述过。如 J. L. Strominger 和其他研究者们的研究所揭示的那样，此物的合成是通过 3 个主要阶段。此过程以简略的图示之，(图 23-20)

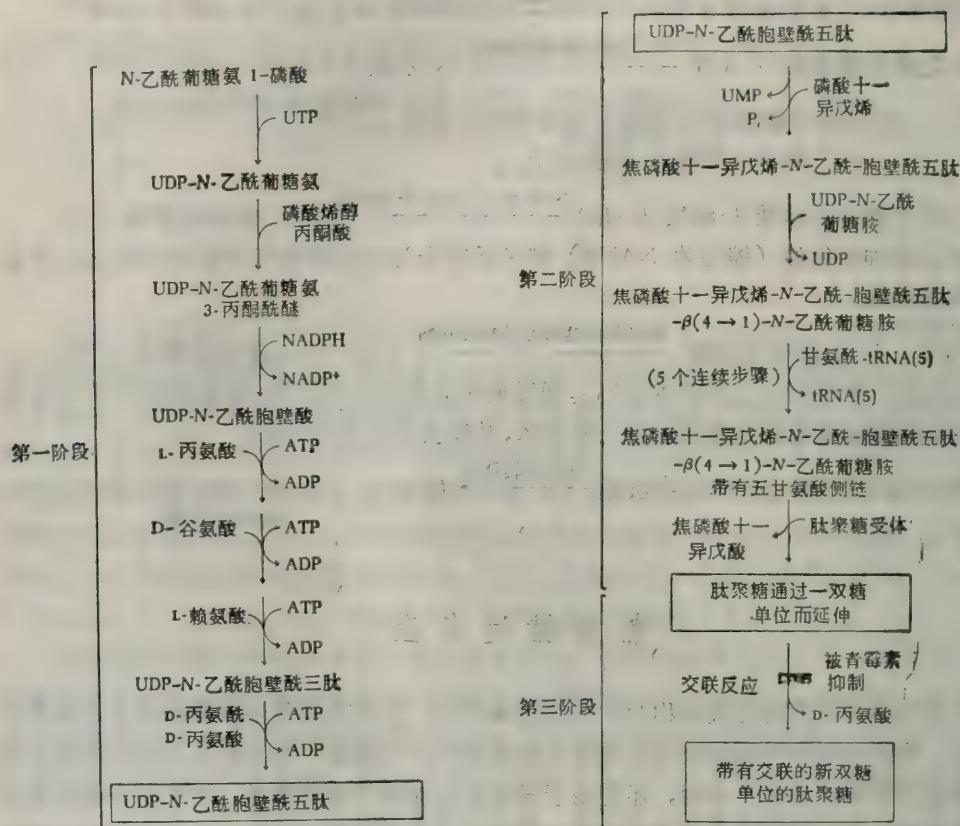
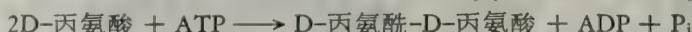


图 23-20 细菌细胞壁的肽聚糖生物合成的步骤。三个阶段都在文内叙述。

在第一阶段，N-乙酰胞壁酰五肽，这种在骨架结构中反复出现的单位，是以其 UDP 衍生物的形式(图 23-21)，从它的前身物 N-乙酰葡萄糖胺，磷酸烯醇丙酮酸和五个氨基酸单位合成的。第一阶段的最后的步骤是二肽 D-丙氨酸丙氨酸加到反复出现的糖单位的三肽侧链上去。这个二肽是由以下反应形成的



此反应值得注意，因为它能被抗生素环丝氨酸(图 23-22)所抑制，环丝氨酸是丙氨酸的结构类似物，在酶促反应中可能与丙氨酸竞争。

到此为止，所有的反应都是在细胞内进行的。在膜中进行的第二阶段中，完整的 N-乙酰胞壁酰五肽由酶促作用首先从 UDP 转移至与膜结合的脂类中间产物磷酸十一异戊烯上去(图 23-23)。其烃链的非极性末端埋藏在细胞膜的类脂部分之中，而其极性末端则携带单糖单位。现在将另一由 UDP-N-乙酰葡萄糖胺供给的单糖单位即 N-乙酰葡萄糖胺加到已附着在十一异戊烯臂上的 N-乙酰胞壁酰五肽上去，生成反复出现的肽聚糖骨架的双

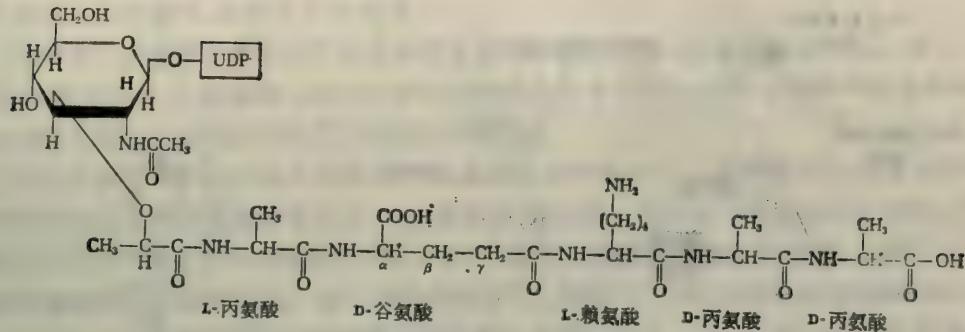


图 23-21 UDP-N-乙酰胞壁酰五肽，注意在D-谷氨酸残基中的 γ 肽键。

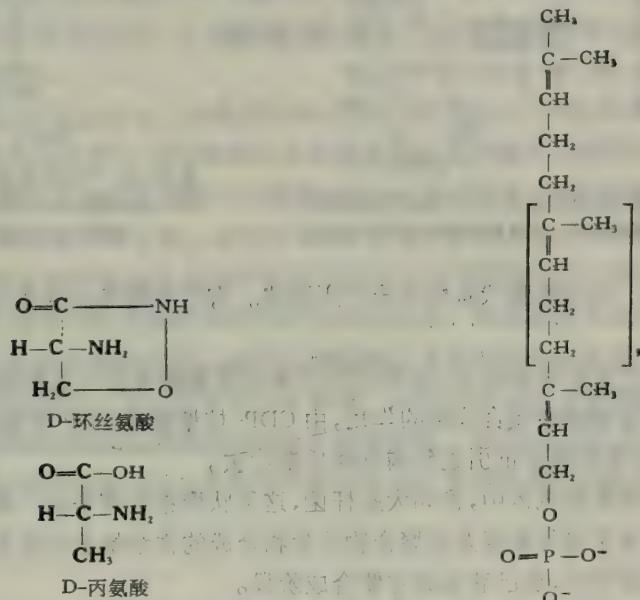


图 23-22 D-环丝氨酸,一种抑制 D-丙氨酸-D-丙氨酸形成的抗菌素在此抗菌素中和 D-丙氨酸中相似的结构以黑体表示。

图 23-23 磷酸十一异戊烯。十一异戊烯醇有 11 个异戊二烯单位,而多萜醇(图 23-18)则有 20 个单位。

糖，即 N-乙酰胞壁酰五肽- β -(4 → 1)-N-乙酰葡萄糖胺，附着在磷酸十一异戊烯上。然后将短的交联肽链加在双糖上。交联肽的长度及其氨基酸的组分随细菌的种不同而异；如在金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)，此链是五甘氨酸。完整的双糖单位与它的交联链，马上转移至肽聚糖聚合物的生长末端。于是十一异戊烯以其焦磷酸盐的形式脱离下来。此物可通过酶水解作用而再生成正磷酸酯。后一反应可被环状肽杆菌肽所抑制，这是一种来自地衣型芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 的抗生素。

细胞壁合成的最后阶段(第三)，在平行的肽聚糖链之间的交联键是通过转肽反应而建立的。在此反应中，一个邻近的肽聚糖链中N-乙酰胞壁酰五肽残基的五肽侧链末端的羧基-末端D-丙氨酸被交联链的氨基末端甘氨酸残基所置换(图23-24)；正是这个反应能被青霉素(图23-25)所抑制。因此，在细菌细胞已经为生物合成投入很大力量以后，青霉素就这样于最后阶段阻抑了细胞壁合成作用的完成。

通过在五肽侧链和交联链上的双糖单位的反复增加，随后又通过交联作用，整个细菌

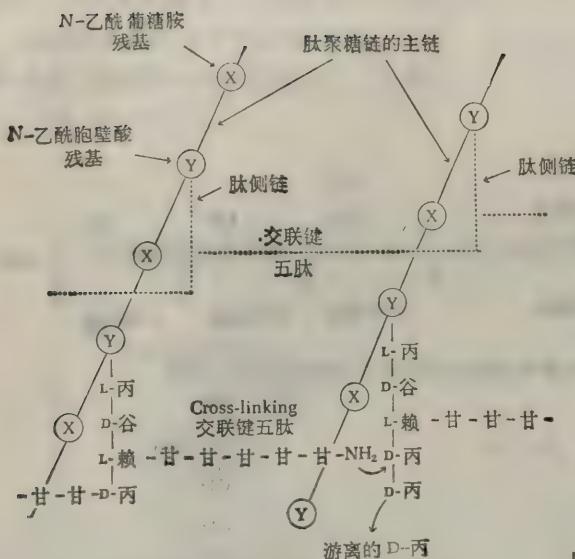


图 23-24 在细菌的细胞壁中，两个邻近的肽聚糖链之间的交联键的完成。此反应能被青霉素所阻抑。

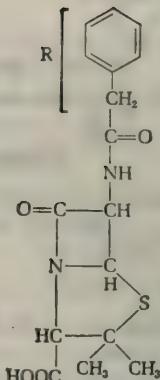


图 23-25 苯基青霉素(青霉素 G)已知有许多不同的青霉素，它们在 R-基的结构上不同。青霉素 G 是在医疗上应用最广的。

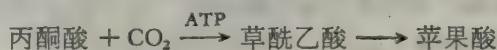
细胞被单个的、巨大的囊状肽聚糖分子所围绕。有些细菌通过这样的方式建成几层肽聚糖。

在一些革兰氏阳性细菌中，细胞壁的坚硬肽聚糖构架由一层磷壁酸质覆盖。此酸的支架结构是通过磷壁酸质合成酶的作用，由 CDP-核糖醇或 CDP-甘油前身物合成的。然后从 UDP 衍生物将糖侧链引进到磷壁酸质链中去。

在革兰氏阴性有机体中，例如大肠杆菌，这种肽聚糖构架是由一种复杂的多聚脂多糖所包围。虽然关于这种极复杂的聚合物的生物合成的详细情况不能在此尽述，但从许多实验室的最近研究中，现已获知其主要合成阶段。

摘 要

在从非糖前身物生物合成大多数的糖类中，其主要共同途径是从丙酮酸至葡萄糖 6-磷酸的途径，酵解作用中大多数可逆反应均可在生物合成方向中被利用。然而酵解作用的两个不可逆反应，则由能量上说来有利于合成作用的旁路反应所代替。首先丙酮酸通过线粒体内的顺序转变为磷酸烯醇丙酮酸



然后通过胞质内顺序：



第二个旁路是通过己糖二磷酸酶的作用，将果糖 1,6,-二磷酸水解成为果糖-6-磷酸。在这个主要途径中从丙酮酸生成葡萄糖 6-磷酸被葡萄糖-6-磷酸酶所作用脱去磷酸而生成游离的葡萄糖。糖原异生作用的速度主要由顺序的第一个反应（丙酮酸羧化酶）所调节，其次由己糖二磷酸酶所调节。酵解作用和糖原异生作用的调节都是独立的。它们可同时发生，从

而可能发生无效循环，丧失了 ATP 能量。

乳酸和三羧酸循环的中间产物能净转变为葡萄糖，生糖原氨基酸也能如此。另一方面，在动物组织中，乙酰辅酶 A 和 CO₂ 都不能净转变为葡萄糖。然而，在植物和微生物中，乙酰辅酶 A 通过乙醛酸循环作用可转变为葡萄糖。

在大多数温带植物的光合作用中，CO₂ 通过从核酮糖 1,5-二磷酸生成 3-磷酸甘油酸的暗反应得以进入葡萄糖的碳骨架中去，这称为 C₃ 途径。在消耗了光反应中生成的 ATP 和 NADPH 后，通过 Calvin 循环的作用，六分子的 CO₂ 能最终转变为葡萄糖，此循环包括磷酸葡萄糖途径和酵解途径。在一些热带植物 (C₄ 植物) 中，CO₂ 最初在叶肉细胞中被固定为 C₄ 酸，此酸随后被转送到维管束鞘细胞中并脱去羧基，CO₂ 又通过 C₃ 途径再被固定。C₃ 植物显示出大量的光呼吸作用，这是由氧与核酮糖二磷酸，而不是由 CO₂ 与它作用所生成的羟基乙酸的氧化作用。C₄ 植物的光呼吸作用很不活跃；在净光合作用中它们较 C₃ 植物的效率高得多。

核苷二磷酸糖类，特别是尿苷二磷酸衍生物，是其它单糖如 D-半乳糖，双糖如蔗糖和乳糖，以及各种多糖的前身物。通过糖原合成酶的作用合成糖原时需要尿苷二磷酸葡萄糖作为葡萄糖供体。糖原合成酶有磷酸化型或称 D 型，此型不活跃，但能被葡萄糖 6-磷酸稍微激活，还有一种脱磷酸型或称 I 型，此型极活跃，并且不依赖葡萄糖 6-磷酸作为调节剂。D-糖原合成酶的磷酸根能被磷酸蛋白酶所移去。I 型则可被蛋白激酶再磷酸化。蛋白激酶的无活性型通过环腺苷酸的作用可转变为活性型。糖原磷酸化酶和糖原合成酶的活力在肌肉和肝脏中独立地被控制。核苷二磷酸糖类也是细胞外结构多糖生物合成的葡萄糖基供体。植物细胞壁中存在的纤维素和木聚糖，动物组织中的透明质酸和糖蛋白中的低聚糖侧链和细菌细胞壁的肽聚糖都是细胞外结构多糖。细菌细胞壁生物合成的某些步骤能被专一的抗生素所抑制。例如，青霉素抑制细胞壁肽聚糖构架生物合成中的最后的交联反应。

参 考 文 献

书籍

- Mehlman, M. A., and R. W. Hanson (eds.): *Energy Metabolism and the Regulation of Metabolic Processes in Mitochondria*, Academic, New York, 1972.
Stanbury, J. B., J. B. Wyngaarden, and D. S. Fredrickson (eds.): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, McGraw-Hill, New York, 1971. Comprehensive account of genetic disorders of carbohydrate metabolism.
Zelitch, I.: *Photosynthesis, Photorespiration, and Plant Productivity*, Academic, New York, 1971.

论文

- Atkinson, D. E.: "Adenine Nucleotides as Coupling Agents in Metabolism and as Regulatory Modifiers: The Adenylate Energy Charge," pp. 1—21 in H. J. Vogel (ed.), *Metabolic Regulation*, vol. 5, Academic, New York, 1971.
Bartholomew, B. A., G. W. Jourdian, and S. Roseman: "The Sialic Acids: Transfer of Sialic Acid to Glycoproteins by a Sialyltransferase from Colostrum," *J. Biol. Chem.*, 248: 5751—5762 (1973).
Bassham, J. A.: "The Control of Photosynthetic Carbon Metabolism," *Science*, 172: 526—534 (1971).
Baynes, J. W., A-F. Hsu, and E. C. Heath: "The Role of Mannosyl-Phosphoryl-Dihydriodisoprenol in the Synthesis of Mammalian Glycoproteins," *J. Biol. Chem.*, 248: 5693—5704 (1973).
Behrens, N. H., and L. F. Leloir: "Dolichol Monophosphate Glucose: An Intermediate in Glucose Transfer in Liver," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 66: 153—159. (1970).

- Bjorkman, O., and J. Berry: "High-Efficiency Photosynthesis," *Sci. Am.*, 229: 80—93 (1973).
- Clark, D. G., R. Rognstad, and J. Katz: "Isotopic Evidence for Futile Cycles in Liver Cells," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 54: 1141—1148 (1973).
- Fischer, E. H., L. M. G. Heilmeyer, Jr., and R. H. Haschke: "Phosphorylase and the Control of Glycogen Degradation," *Curr. Top. Cell Regul.*, 4: 211—251 (1971).
- Goldsworthy, A.: "The Riddle of Photorespiration," *Nature*, 224: 501—502 (1969).
- Hassid, W. Z.: "Biosynthesis of Oligosaccharides and Polysaccharides in Plants," *Science*, 165: 137—144 (1969).
- Larner, J., and C. Villar-Palasi: "Glycogen Synthase and Its Control," *Curr. Top. Cell Regul.*, 3: 195—236 (1971).
- Mechler, W. R., and H. A. Lardy: "Rat Liver Pyruvate Carboxylase: Factors Affecting the Regulation in Vivo," *J. Biol. Chem.*, 246: 3591—3596 (1971).
- Sols, A., and R. Marco: "Concentrations of Metabolites and Binding Sites: Implications in Metabolic Regulation," *Curr. Top. Cell. Regul.*, 2: 227—273 (1970).
- Strominger, J. L.: "The Actions of Penicillin and Other Antibiotics on Bacterial Cell Wall Synthesis," *Johns Hopkins Med. J.*, 133: 63—81 (1973).

习题

- 写出以下过程的平衡方程式:
 - 大白鼠肝脏中从柠檬酸到净形成 D-葡萄糖,
 - 大白鼠肝脏中从苯丙氨酸净形成 D-葡萄糖,
 - 高等植物种子中棕榈酸净转变成 D-葡萄糖。
 - 高等植物中 L-亮氨酸净转变为 D-葡萄糖。
- $3-^{14}\text{C-L-亮氨酸}$ 中的同位素碳原子将在肝糖原中葡萄糖残基和肝脏磷脂酰胆碱的棕榈酸的那个碳原子中发现?
- 写出从丙酮酸开始到合成糖原的一个 D-葡萄糖残基的平衡方程式。需要多少个高能磷酸键?
- 写出从丙酮酸生物合成 L-抗坏血酸的平衡方程式。
- 如果将绿叶在有放射活性的 CO_2 存在下进行短时间光照, 随后提取之。你预期在提取液中发现的以下化合物中哪个位置上能找到同位素碳? (a) D-葡萄糖-6-磷酸; (b) 景天庚酮糖-7-磷酸; (c) 核糖 5-磷酸。假定我们所涉及的是一种 C_3 植物。

[曹莘子译 李守谅、任邦哲校]

第二十四章 脂类的生物合成

脂类的生物合成在大多数有机体内是一个重要的代谢过程。由于高等动物储存多糖的能力有限，因而摄入的葡萄糖，在满足机体即时的能量需要和储存能力后，多余的部分就通过糖酵解变为丙酮酸，再变为可以合成脂肪酸的乙酰 CoA。脂肪酸合成后又进一步变为三酰基甘油。后者所含能量比多糖类高得多，并可以大量储存于脂肪组织中。很多植物的种子和果实也储存有三酰基甘油。

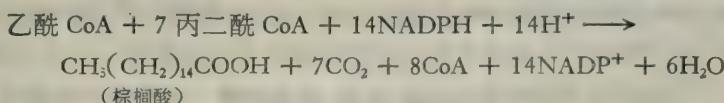
构成细胞膜的各种磷脂和鞘脂类的形成也是一个重要的生物合成过程。在大多数细胞中，这些复杂的脂类经受着不断的代谢更新。

本章将要讨论脂肪酸的生物合成，三酰基甘油以及其他各种含有脂肪酸作为基本构成材料的脂类的形成，同时也要讨论某些可以遗传的脂类沉积疾病。胆固醇和其他类固醇以及前列腺素的合成也在本章讨论之列。虽然在大多数细胞中，类固醇激素和前列腺素的形成只占全部生物合成能力的一小部分，但由于它们在调节很多不同的细胞功能中具有生物活力，因而他们的生物合成就成为一种很重要的代谢活动。

饱和脂肪酸的生物合成

饱和脂肪酸从其直接前身物乙酰 CoA 的生物合成可以在所有机体内进行，但在高等动物的肝、脂肪组织和乳腺中特别显著。脂肪酸合成过程与其相反的脂肪酸氧化过程显然不同。首先，脂肪酸合成的全部过程发生在细胞溶质中，而脂肪酸氧化过程则发生在线粒体内。其次，要使脂肪酸合成达到最大速度，柠檬酸的存在是必不可少的，而脂肪酸氧化时却并不需要柠檬酸。也许最出人意料的差别是，在细胞提取物中， CO_2 是脂肪酸合成时所必需的，虽然同位素标记的 CO_2 本身并不掺入新合成的脂肪酸。这些观察和其他很多观察都表明，由乙酰 CoA 合成脂肪酸所利用的一组酶类完全不同于脂肪酸氧化时所用的那些酶类。

脂肪酸合成的全部反应都是由脂肪酸合成酶复合物（在细胞溶质中的一群蛋白质，共七个）所催化的。在这整个过程中，由糖类或氨基酸来源所产生的乙酰 CoA 是脂肪酸链所有碳原子的直接前身物。但是，在生物合成棕榈酸所需的八个乙酰基单位中，只有一个是由乙酰 CoA 供给的，其他七个是以丙二酰 CoA 的形式出现的；这种丙二酰 CoA 是在一种羧化作用反应中由乙酰 CoA 和 HCO_3^- 形成的。一个乙酰残基和七个丙二酰残基连续缩合而释放出七个 CO_2 分子，形成棕榈酸；NADPH 起着还原作用：



在这个过程中，需要一分子的乙酰 CoA 作为“引物”或“起始物”；其乙酰基中的两个碳原子变为所形成的棕榈酸的两个末端碳原子（15 位和 16 位）。脂肪酸合成时碳链的延长就

是这样从乙酰 CoA 的羧基开始，然后向正在延长的碳链羧基末端上相继加进乙酰残基。每一个相继加进的乙酰残基都是从丙二酸残基的三个碳原子中的两个变来的；丙二酸残基以丙二酰 CoA (图 24-1)的形式进入反应系统。丙二酸的第三个碳原子，也就是没有酯化的羧基碳原子，就以 CO_2 的形式丢失了。最终产物就是一个分子的棕榈酸。这一系列的反应大部分是在 F. Lynen, S. J. Wakil 和 P. R. Vagelos 等人的实验室得到阐明的。



50 毫微米



0.2 毫米

图 24-2 酵母的脂肪酸合成酶复合物。
电子显微镜照片(上图)，用磷钨酸进行负对比染色显示的合成酶复合物的单个分子。每个分子含有明显地有规则地按三维方式排列的七种酶蛋白。已经得到了酵母脂肪酸合成酶的结晶(下图)；每一个晶体当然含有许多分子的复合物。

脂肪酸生物合成机制的一个明显特点，就是在碳链延长过程中的酰基中间产物，和脂肪酸氧化过程中的不一样，不是 CoA 的硫酯，而是一种低分子量的结合蛋白质的硫酯。这种蛋白质叫做酰基载体蛋白(ACP)。棕榈酸的完全合成，除 ACP 外，尚需其它六种酶蛋白；ACP 能和这六种酶蛋白结合成一种或多种复合物。在大多数真核细胞中，脂肪酸合成酶复合物中所有七种蛋白质组合成一个多酶群。酵母细胞的脂肪酸合成酶复合物已被 Lynen 及其同事们分离提纯(图 24-2)，其分子量为 230 万，但这种酶复合物若再分离为单个酶组分，则会丧失其活力。另一方面，鸽肝的脂肪酸合成酶复合物能够解离为两种主要组分而并不丧失活性。最容易解离的是大肠杆菌的脂肪酸合成酶复合物，它的七种酶都能分离出活性型，且可分别地提供研究。我们有关脂肪酸合成一系列步骤的知识大多数是来自 Vagelos 及其同事们对大肠杆菌的脂肪酸合成酶的研究。在大多数有机体中，脂肪酸合成酶系的终末产物是棕榈酸，而棕榈酸又是其他更高级的饱和脂肪酸和所有不饱和脂肪酸的前身物。

下面我们将要详尽地分析脂肪酸生物合成中的酶促反应。

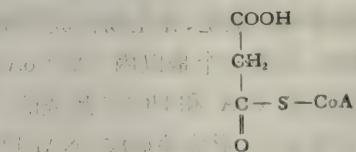


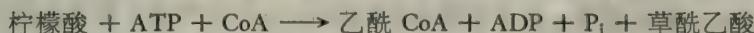
图 24-1 丙二酰 CoA

脂肪酸合成的碳源

脂肪酸的所有碳原子的最终来源是乙酰 CoA。乙酰 CoA 是在线粒体中由丙酮酸的氧

化脱羧、某些氨基酸的氧化降解或长链脂肪酸的 β 氧化所形成。

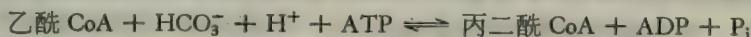
乙酰 CoA 本身不能离开线粒体而进入细胞溶质中去，但是，它的乙酰基能以其他化学形式转运过膜。前面已经指出，在线粒体内由乙酰 CoA 和草酰乙酸形成的柠檬酸可以通过三羧酸运送系统透过线粒体膜而进入细胞质。在细胞溶质中，柠檬酸被 ATP-柠檬酸裂合酶分解而再产生乙酰 CoA。这种酶也叫柠檬酸裂解酶，它催化以下反应：



乙酰 CoA 的乙酰基团在第二条途径中，通过酶促反应转移到肉碱；而我们在前面已经提到，肉碱可以作为即将氧化的脂肪酸的一种载体进入线粒体。乙酰肉碱通过线粒体膜由线粒体基质进入细胞溶质中；然后乙酰肉碱的乙酰基团转移到细胞溶质 CoA 上，就重新产生了乙酰 CoA。

丙二酰 CoA 的形成：乙酰 CoA 羧化酶

在脂肪酸合成酶复合物利用乙酰 CoA 的乙酰基团前，先要进行一个重要的准备反应，即把乙酰 CoA 转变为丙二酰 CoA。棕榈酸共有 16 个碳原子，而丙二酰 CoA 是其中 14 个碳原子的直接前身物。在细胞溶质中，丙二酰 CoA 是在乙酰 CoA 羧化酶的作用下，由乙酰 CoA 和碳酸氢形成的。乙酰 CoA 羧化酶是一种复合酶，它催化下列反应：



如图 24-3 所示，参与这一反应的是 HCO_3^- ，而不是 CO_2 ； HCO_3^- 的碳原子变为丙二酰 CoA 末端的或游离羧基的碳。但是，上列方程式和图 24-3 仅只表示了总体反应，至少是三个中间反应的总和。

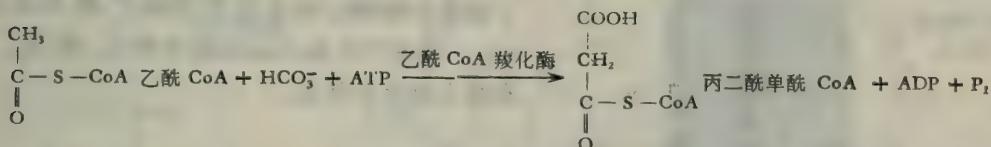
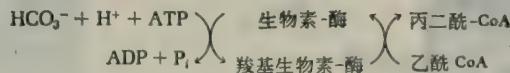


图 24-3 乙酰 CoA 的羧化反应

乙酰 CoA 羧化酶含有生物素作为它的辅基。生物素的羧基与这个酶的一个亚基中的一个专一赖氨酸残基上的 ϵ -氨基以酰胺键相结合。在一个两步反应的循环中，这种以共价键结合的生物素起着 CO_2 分子的中间载体的作用。



上述由乙酰 CoA 羧化酶（一种变构酶）所催化的反应是脂肪酸生物合成中一个主要的调节步骤或限速步骤。在缺乏阳性调节物柠檬酸和异柠檬酸的情况下，乙酰 CoA 羧化酶实际上是没有活性的。柠檬酸对这种酶的明显的变构刺激作用说明了这一事实，即在细胞提取物中，柠檬酸并非作为一种前身物，但也是合成脂肪酸所必需的。

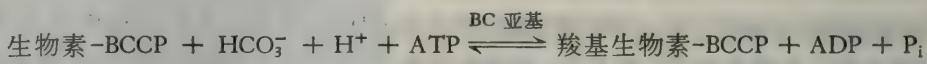
乙酰 CoA 羧化酶有两种形式，即一种无活性的单体和一种有活性的多聚体。在鸟类的肝中存在的无活性酶单体的分子量为 41 万，带有三个结合部位，分别与 HCO_3^- 、乙酰

CoA 和柠檬酸相结合(与 HCO_3^- 结合的部位即一个生物素辅基)。柠檬酸可改变无活性的单体和有活性的多聚体之间的平衡,使单体转变为多聚体。

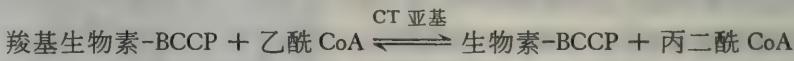


动物组织的多聚型乙酰 CoA 羧化酶是由很多单体酶的长丝构成的;每一个单体单位含有一个分子结合的柠檬酸。各个多聚体的长短不一,但平均每一条长丝约含有 20 个单体单位,粒子量约为 8 兆道尔顿,长约 400 毫微米。这样一些长丝已经过电子显微镜研究(图 24-4),并且已在脂肪细胞的细胞质中确实观察到。

乙酰 CoA 羧化酶反应实际上比前面描述的要更为复杂。事实上,此酶的单体单位含有四个不同的亚基。通过对单体四个亚基的研究,已经推断出形成丙二酰 CoA 的反应顺序。生物素羧化酶(BC)是这四个亚基中的一个,它催化整个反应的第一步,也就是生物素残基的羧化作用。此种生物素残基是与第二个亚基,即生物素羧基载体蛋白(ECCP)以共价键相结合的。



整个反应的第二步是由第三种亚基,即羧基转移酶(CT)所催化。



在这些反应中,生物素载体蛋白的生物素残基作为一个摆动臂,把碳酸氢离子从生物素羧化酶亚基转移到与羧基转移酶亚基的活性部位相结合的乙酰 CoA 上。在柠檬酸与每一个单体的第四个亚基相结合时,乙酰 CoA 羧化酶就由无活性的单体形式变为有活性的多聚体形式。变构调节剂柠檬酸的结合极大地增加了羧基生物素的羧基团转移到乙酰 CoA 的 V_{max} ,而对于乙酰 CoA 的结合来说,则 K_M 只有很少或没有变化。

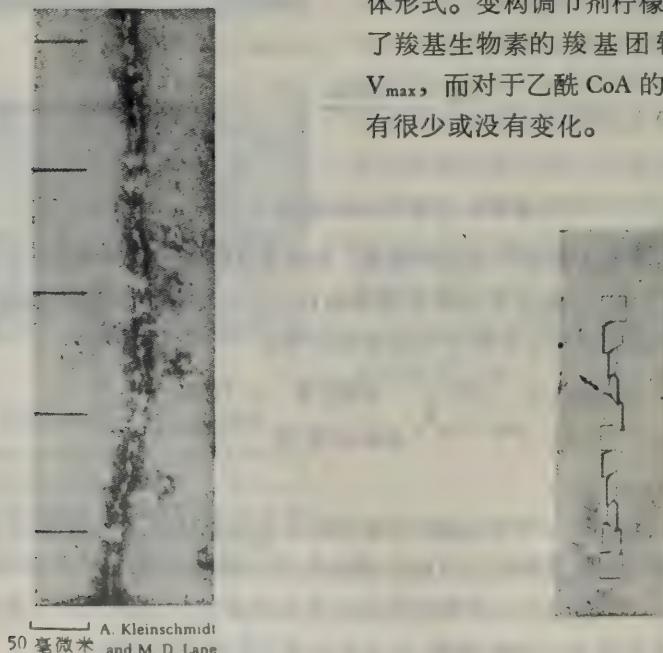


图 24-4 小鸡肝脏乙酰 CoA 羧化酶有酶促活性的多聚体形式的电子显微镜照片。

右侧是表示其各单体单位关系的示意图。

脂肪酸合成酶系的一些反应

在相当复杂的乙酰 CoA 羧化酶反应的作用下,一旦从乙酰 CoA 产生了丙二酰 CoA,紧接着就发生合成脂肪酸的一些反应。这些反应就是由脂肪酸合成酶系的六种酶所催化的一系列连续的六个步骤。这一酶系的第七种蛋白,叫做酰基载体蛋白,它本身并无酶促活性,它与正在延长的脂肪酸链以共价键相结合。

酰基载体蛋白

酰基载体蛋白(通常以 ACP 表示),是 Vagelos 及其同事们从大肠杆菌中首次分离提纯的,此后又从其他很多来源得到并进行了研究。大肠杆菌的 ACP,是一种相当小的(分子量为一万)、热稳定的蛋白质,它含有七十七个氨基酸残基,其顺序也已被确定还含有一个以共价键结合的辅基。Vagelos 及其同事们利用多肽合成的固相法,已经合成了很多 ACP 多肽的类似物。通过对这些类似物的研究,已弄清楚了 ACP 的多肽链的哪一部分是与脂肪酸合成酶系复合物的六个酶分子相结合的。

与酰基中间物酯化的 ACP 的单个巯基,是由 ACP 的辅基提供的。此辅基即一分子的

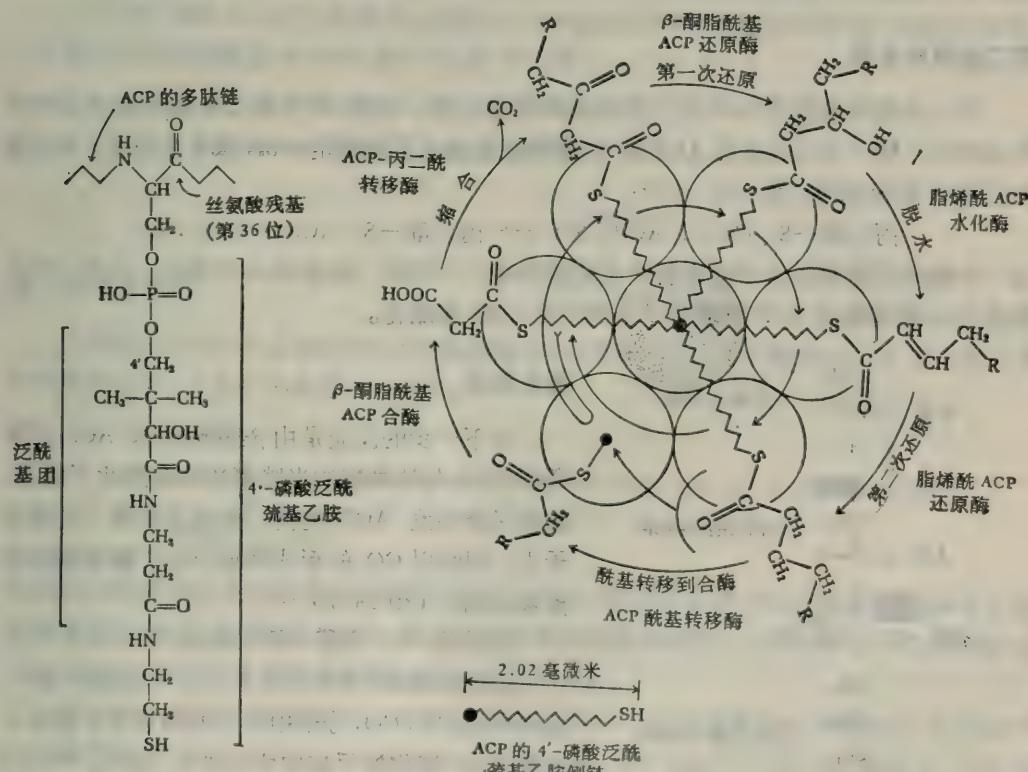


图 24-5 酰基载体蛋白(ACP)辅基的结构。其巯基和脂肪酸形成硫酯。

图 24-6 脂酸合成酶复合物的一个示意图。其中心蛋白分子是 ACP。ACP 的磷酸泛酰巯基乙胺长侧链象一个摆动的臂将酰基从一个酶分子带到下一个酶分子,以完成每增加一个二碳单位所需的六个步骤。

$4'$ -磷酸泛酰巯基乙胺，它和 ACP 第 36 位的丝氨酸残基的羟基以共价键相结合（图 24-5）。ACP 中的 $4'$ -磷酸泛酰巯基乙胺部分和辅酶 A 中的这一部分相同，并起源于辅酶 A。ACP 在脂酸合成中的作用与 CoA 在脂肪酸氧化中的作用相类似：它充当酰基中间物酯化时的一个停泊地。（图 24-6）

现在我们来分析脂肪酸合成时所涉及的一系列反应。

启动反应

脂肪酸合成酶系的六种酶中，有一种叫 ACP-酰基转移酶。在这种酶的作用下，乙酰 CoA 首先与 ACP 的巯基发生反应，从而启动脂肪酸合成酶系发生作用。ACP-酰基转移酶所催化的反应如下：



但是，这个乙酰基并不留在 ACP 上，而是转移到脂肪酸合成酶复合物中另一个叫做 β -酮脂酰基 ACP 合酶的一个专一的半胱氨酸残基上。在以下反应式中， β -酮脂酰基 ACP 合酶简称为合酶。



通过这个反应，脂肪酸合成酶复合物就被启动，并准备实现在加长碳链过程中每增加一个二碳单位所需的一系列反应。

丙二酰转移步骤

下一步的反应是由 ACP 丙二酰转移酶所催化的。此时，在乙酰 CoA 羧化酶反应中所形成的丙二酰-S-CoA 与 ACP 的 $4'$ -磷酸泛酰巯基乙胺臂的-SH 基发生反应，失去游离的 CoA 而形成丙二酰-S-ACP：



这一步骤与其前面的启动反应所产生的结果有：一个丙二酰基和 ACP 酯化，以及一个乙酰基与 β -酮脂酰基 ACP 合酶分子上的一个-SH 基酯化。

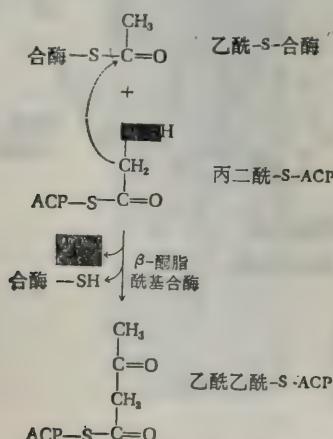
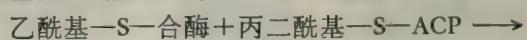


图 24-7 脂酸合成中的缩合反应

缩合反应

再下一步的反应是由 β -酮脂酰基 ACP 合酶所催化的，与这种酶的半胱氨酸残基酯化了的乙酰基又转移到 ACP 的丙二酰基团的第二个碳原子上，同时以 CO_2 的形式释放出丙二酰残基的游离羧基团。（图 24-7）

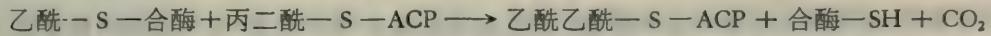


这样释放出的 CO_2 分子中所含的碳原子，就是在乙酰 CoA 羧化酶反应中所引进的 HCO_3^- 中的同一个碳原子。实际上 HCO_3^- 在脂肪酸合成中起了一种催化的作用，因为每当在延长的脂肪酸碳链中插入一个二碳单位时，它就以 CO_2 的形式重新生成。

对反应平衡的研究发现了生物学上选择丙二酰 CoA 作为脂肪酸合成中二碳残基前生物的可能根据。如果乙酰乙酰 CoA 是通过乙酰 CoA 乙酰基转移酶的作用由两个分子的乙酰 CoA 形成的话：



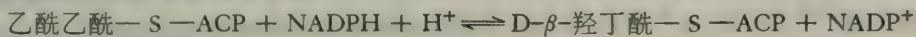
则这个反应应是吸能的，其平衡会向左移。反之，乙酰乙酰-S-ACP 通过下列反应形成



则是强烈地放能的。其平衡大大向右移向合成方向，因为丙二酰残基的脱羧作用是强烈地放能的，它为完成脂肪酸合成提供了强大的热力学推动力。

第一次还原反应

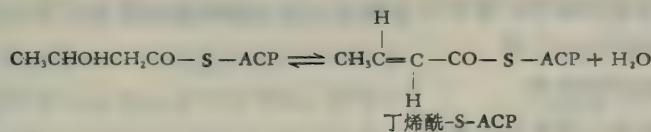
乙酰乙酰-S-ACP 接着又被 NADPH 还原而生成 β -羟丁酰-S-ACP。这一反应由 β -酮脂酰基-ACP 还原酶所催化



值得指出的是，产物是 β -羟酸的 D 型立体异构物；而在脂肪酸氧化中所形成的异构体却具有 L 构型。

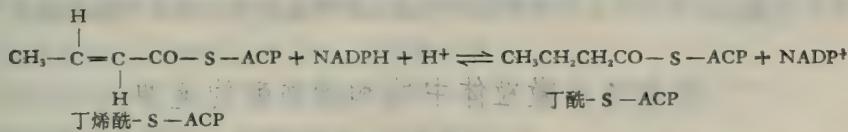
脱水步骤

D- β -羟丁酰-S-ACP 接着通过烯酰-ACP-水化酶的作用脱水而形成相应的反式- α,β 或 Δ^2 -不饱和酰基-S-ACP，即丁烯酰-S-ACP：



第二次还原反应

丁烯酰-S-ACP 然后被烯酰-ACP 还原酶 (NADPH) 还原为丁酰-S-ACP，在大肠杆菌和动物组织中，其电子供体是 NADPH：



此反应与线粒体内脂肪酸氧化的相应反应也不同：即参与此反应的是吡啶核苷酸而不是黄素蛋白。由于 NADPH-NAD⁺ 偶联与氧化脂肪酸的黄素蛋白相比，有一个更负的标准电位，因此 NADPH 有利于饱和脂肪酸的还原生成。

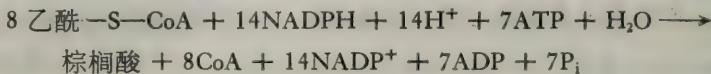
丁酰-S-ACP 的生成完成了棕榈酰-S-ACP 过程中七次循环中第一次循环。在开始下一次循环时，丁酰基团就从 ACP 转移到 β -酮脂酰基 ACP 合酶分子的-SH 基团上，这样就使 ACP 有可能从另一分子的丙二酰 CoA 中接受一个丙二酰基。下一步就是丙二酰-S-ACP 和丁酰-S- β -酮脂酰基-ACP 合酶缩合生成 β -酮己烯-S-ACP 和 CO₂，这样又重复一次循环。

在七次循环完成后，棕榈酰-ACP 就是终末产物。棕榈酰基团可以通过硫酯酶的作用而去掉以生成游离棕榈酸，或从 ACP 转移到 CoA；也可在形成磷脂类和三酰基甘油的途径中直接掺入磷脂酸中。

值得注意的是，在大多数有机体中，脂肪酸合成酶系的作用随着棕榈酸的产生而终止，并且不形成硬脂酸；硬脂酸只比棕榈酸多两个碳原子，因此在物理性质方面两者也无显著差别。脂肪酸合成酶系这种碳链长度专一性是由 β -酮脂酰基-ACP 合酶所赋予的。大概由于这种酶与饱和酰基团结合的部位只能容纳某种特定范围的链长度，它从 ACP 接受十四酰基团（14 个碳原子）时是很有活性的，但并不接受十六酰基团（16 个碳原子）。此外，棕榈酰 CoA 起了脂肪酸合成酶系的一种反馈抑制剂的作用。

具有奇数碳原子的一些饱和脂肪酸，存在于很多海洋有机体中。也是由脂肪酸合成酶复合物所生成的。在这种情况下，其合成过程由丙酰-S-ACP 而不是由乙酰-S-ACP 作起始分子所启动，然后通过与丙二酰-S-ACP 的缩合不断地向这个分子加上二碳单位。

现在我们已能写出由乙酰基-S-CoA 开始的棕榈酸生物合成的总反应式：



在合成棕榈酸的各个还原步骤中，共需 14 个分子的 NADPH，它们大部分是通过磷酸葡萄糖酸途径从葡萄糖-6-磷酸的依赖 NADP 的氧化作用中产生的。在脊椎动物的肝、乳腺和脂肪组织中，脂肪酸生物合成的速率相当高并有一个很有活力的 6-磷酸葡萄糖酸途径。植物中脂肪酸生物合成所需的 NADPH 是通过 NADP⁺ 的光还原作用而产生的。

棕榈酸生物合成的酶促步骤和它在氧化过程中的酶促步骤有以下几点不同：

- (1) 他们在细胞内的位置
- (2) 酰基团载体的类型
- (3) 二碳单位加上或除去的形式
- (4) β -酮脂酰- β -羟酰反应的吡啶核苷酸专一性
- (5) β -羟酰中间产物立体异构的构型
- (6) 丁烯酰-丁酰步骤中的电子供体-受体系统
- (7) 对柠檬酸和 HCO_3^- 的反应

这些不同就可说明为什么两种相反的代谢过程彼此能够在细胞中独立地进行。

线粒体和微粒体中饱和脂肪酸的延伸

棕榈酸是脂肪酸合成酶系的正常终末产物，在大多数有机体内，也是其他长链饱和及不饱和脂肪酸的前身物。有两种不同类型的酶系促使棕榈酸延伸成为碳链较长的饱和脂肪酸（其中硬脂酸最丰富）：一种酶系在线粒体内，另一种酶系在内质网内。

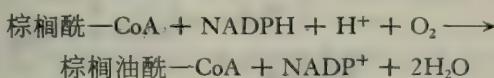
在线粒体内，棕榈酸和其他饱和脂肪酸的碳链可以通过在羧基末端连续加上以乙酰 CoA 形式出现的乙酰单位而延伸，丙二酰-S-ACP 不能替换乙酰 CoA。线粒体内碳链延伸的酶促反应和脂肪酸氧化时的酶促反应是相似的。棕榈酰基 CoA 与乙酰 CoA 缩合生成 β -酮硬脂酰 CoA，然后被 NADPH 还原成为 β -羟硬脂酰 CoA。后者脱水变成 Δ^2 -不饱和硬脂酰 CoA，再消耗 NADPH 还原生成硬脂酰 CoA。这个酶系也可以延伸不饱和脂肪

酸。

微粒体制剂中，能延伸无论饱和的或不饱和的脂酰-CoA 酯，但在这种情况下，乙酰基团的来源是丙二酰 CoA，而不是乙酰 CoA。其反应顺序和脂肪酸合成酶系的相同，不同之点就是微粒体酶系利用 CoA 而不是 ACP 作为酰基载体。

单烯酸的形成

棕榈酸和硬脂酸是动物组织中两种普通的单烯(单不饱和)脂肪酸即棕榈油酸和油酸的前身物。这两种单烯脂肪酸都在 Δ^9 位置上有一个顺式双键。虽然大多数有机体具有合成棕榈油酸和油酸的能力，但在需氧有机体和厌氧有机体之间，其合成途径与所用酶类则有所不同。在脊椎动物(以及其他大多数需氧有机体)体内， Δ^9 双键是由一种专一的单氧酶系所引入的，此酶系位于肝和脂肪组织的内质网内。一个分子的分子氧(O_2)被用来作为两对电子的受体，一对电子来自棕榈酰 CoA 或硬脂酰 CoA 底物，另一对电子来自该反应所需的一种辅还原剂 NADPH。这个复杂反应的电子转运，需有一个微粒体电子转移链，将电子从 NADPH(或 NADH)通过细胞色素 b₅还原酶(一种黄素蛋白)带到微粒体内细胞色素 b₅上。在激活酰基 CoA 和上述分子氧时，需要一种对氰化物敏感的末端因子(简称 CSF，也是一种蛋白质)。在某些植物和某些低级的需氧有机体内，细胞色素 b₅并不参与反应而被一种铁硫蛋白所代替。棕榈酰 CoA 所经历时总反应式如下：



在很多细菌中，一种完全不同的，不需要分子氧参与的机制在起作用。在这种情况下，并不发生某种脂肪酰 CoA 的氧化去饱和变化，而是发生一种专一的饱和的中间长度的 β -羟酰基-ACP 的脱水作用。在大肠杆菌中，棕榈油酸的生物合成是从被脂肪酸合成酶系形成的 β -羟癸酰 ACP 开始的。 β -羟癸酰 ACP 脱水酶使 β -羟癸酰 ACP 脱水而生成 β 、 γ -或 Δ^3 -癸酰-ACP(大概是顺式)。在十碳不饱和酰基-ACP 的羧基末端，加上以丙二酰 ACP 形式带来的三个以上的二碳单位，就生成棕榈油酸的 ACP 酯。

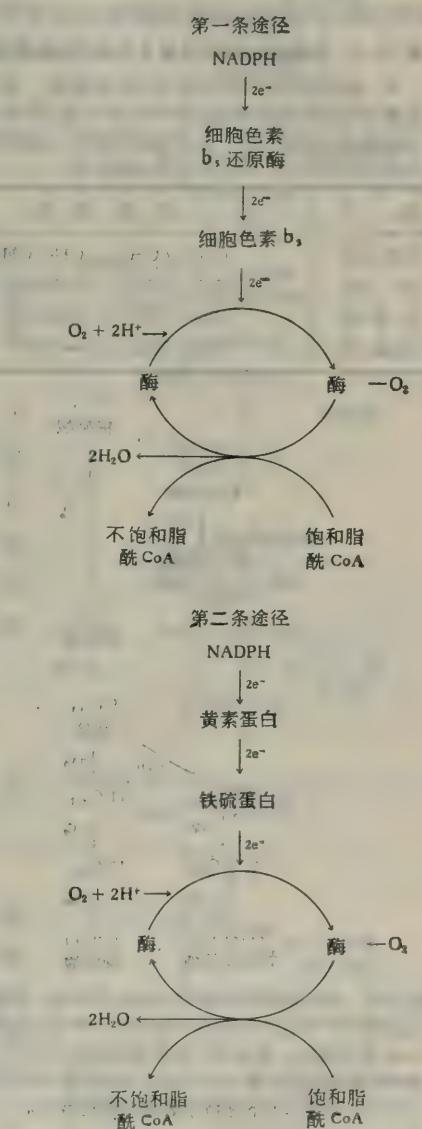


图 24-8 脂肪酸去饱和时电子转运的途径。第一条途径表示动物组织中的机制，而第二条途径发生在某些植物和微生物中。在第一条途径中和氧的反应被氰化物所抑制。

多烯酸的形成

细菌并不含多烯酸，但在高等植物和动物中，多烯酸却很丰富。哺乳动物含有四种不同族的多烯酸，它们的区别在于末端甲基和最近的双键之间的碳原子数目不同。这些不同族的多烯酸是根据其前身物脂肪酸，即棕榈油酸、油酸、亚油酸和亚麻酸的名字来命名的（表 24-1）。哺乳动物体内所存在的一切多烯酸都是由这四种前身物通过进一步延伸和（或）去饱和反应而形成的。这四种前身物脂肪酸中的两种，亚油酸和亚麻酸，是哺乳动物所不能合成的，必须从植物来源中获得，故被称为必需脂肪酸。

表 24-1 多烯酸的各族（根据其母体不饱和脂肪酸命名）

每一族都包括一些来自母体酸的多烯酸。这些多烯酸是通过在羧基末端增加二碳单位，和（或）在羧基与下列母体构造之间的位置上去饱和而形成的；这样每一族的所有成员都具有下列的甲基末端链结构

族名	碳链结构
棕榈油酸	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-$
油 酸	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-$
亚油酸	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_9-\text{CH}=\text{CH}-$
亚麻酸	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$

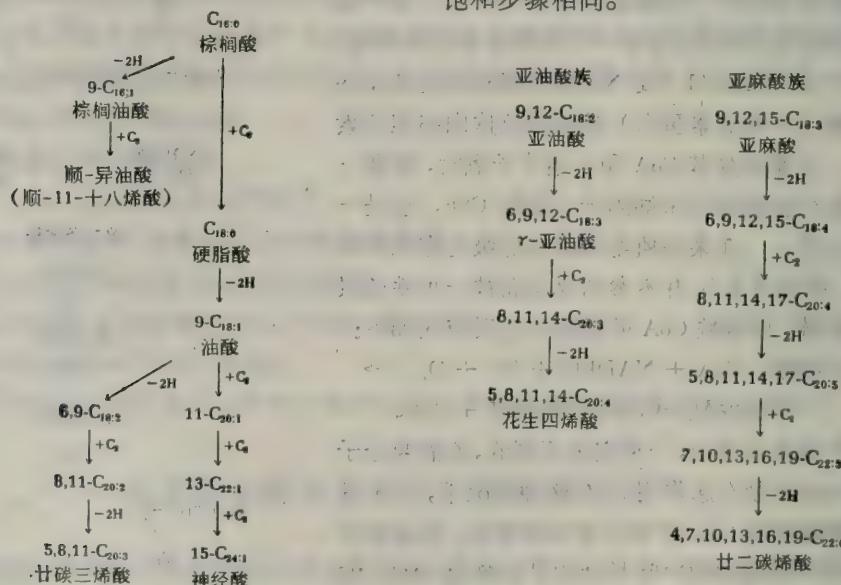


图 24-9 由棕榈酸形成各种不饱和脂肪酸。这些转变过程（以及图 24-10 所列的那些转变过程）都是以有关脂肪酸的 CoA 酯出现的。用来表示各种脂肪酸的符号中，前缀数字表示双链的位置，第一个下标数字表示链中碳原子的数目，第二个下标数字表示双键的数目。

脂肪酸的饮食饲养幼年大鼠时，它们的生长变缓并出现脱屑性皮炎和皮肤变厚。此时不仅加喂亚油酸或亚麻酸可以使这些症状缓解，加喂花生四烯酸也一样。下文我们将要谈到，必需脂肪酸和它们的一些衍生物（图 24-10）可作为前列腺素的前身物。

图 24-9 列举了由棕榈油酸和油酸所衍生的一些重要的动物多烯酸及其形成的途径。通过上述线粒体或微粒体体系的作用，在羧基末端使碳链延伸。去饱和步骤是在 NADPH 作为氧的辅还原剂的参与下通过细胞色素 b₅-加氧酶系的作用而发生的。这种去饱和步骤和上文提到的棕榈油酸和油酸形成时的去饱和步骤相同。

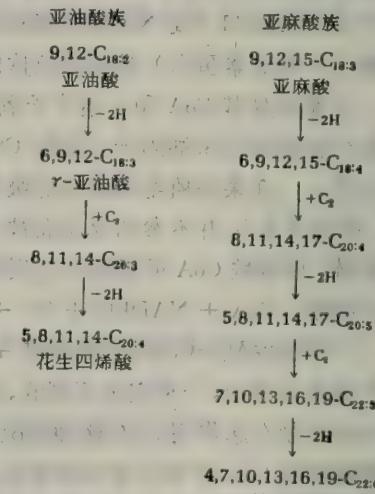


图 24-10 由必需脂肪酸合成多烯酸的途径

图 24-10 列举了亚油酸和亚麻酸所衍生的一些多烯酸之间的关系。花生四烯酸是最常见的多烯酸。当以缺乏必需

在植物中，亚油酸和亚麻酸都是从油酸经过需氧去饱和反应合成的，这些反应是由一些需要 NADPH 作为辅还原剂的专一的加氧酶系所催化的。

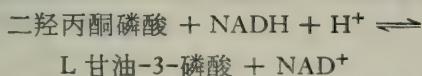
天然脂肪酸的双键一般不经过氢化作用而生成较为饱和的脂肪酸；只有很少的有机体实现这一过程。但是，不饱和脂肪酸却可被脂肪酸氧化酶系完全氧化。

在大多数有机体中，饱和脂肪酸变成不饱和脂肪酸是由环境低温所促进的。这是为了保持全部细胞脂类的溶点低于周围环境温度的一种适应；不饱和脂肪酸比饱和脂肪酸的溶点要低。在某些有机体中，有关脂肪酸去饱和的酶类浓度增加是对环境低温的反应；在另外一些机体中，不饱和脂肪酸嵌入脂类的速率加快。

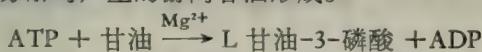
三酰基甘油的生物合成

三酰基甘油起着库脂或储脂的作用，在脊椎动物的细胞中，特别是在肝和脂肪细胞中，以及在高等植物的细胞中，其合成都很活跃。细菌一般只含相当少量的三酰基甘油。

在高等动植物中，三酰基甘油的合成需要两个主要的前身物；L 甘油-3-磷酸（sn-甘油-3-磷酸）和脂肪酰基 CoA 类。L 甘油-3-磷酸有两种不同来源。其正常前身物是二羟丙酮磷酸，它是糖酵解时醛缩酶反应的产物。二羟丙酮磷酸，通过细胞溶质中与 NAD 相连的甘油-3-磷酸脱氢酶的作用而还原为 L 甘油-3-磷酸。



L 甘油-3-磷酸也可以通过甘油激酶的作用由三酰基甘油分解时产生的游离甘油形成。



三酰基甘油形成的第一步是甘油磷酸的游离羟基团被两分子脂肪酰基 CoA 酰化首先生成一种溶血磷脂酸，然后再生成一种磷脂酸（图 24-11）。游离甘油则不酰化。在这些反应中起酰化作用的大都是含有十六碳和十八碳的饱和及不饱和酰基 CoA 类。在某些微生物（如大肠杆菌）内，脂肪酰的供体是脂肪酰 ACP 而不是脂肪酰 CoA。磷脂酸形成的另一个途径是脂肪酰基团和二羟丙酮磷酸的酯化反应。这一途径包括以下一些反应：

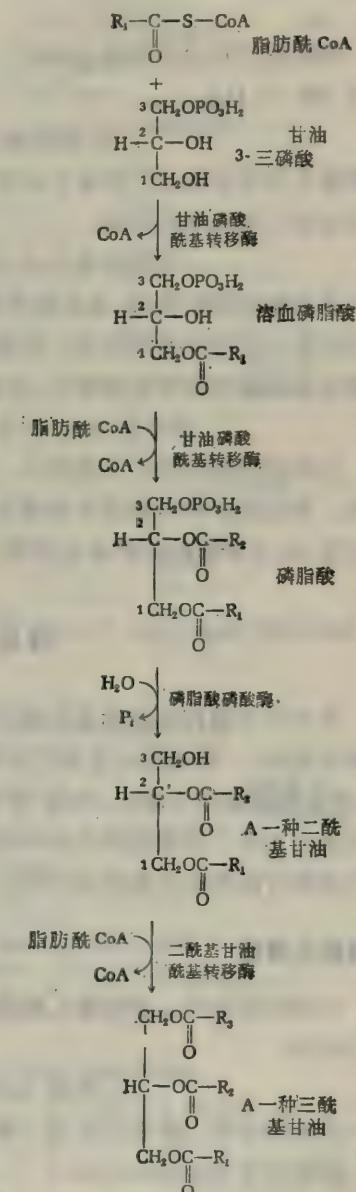
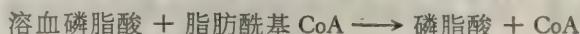
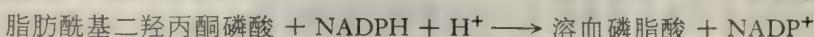
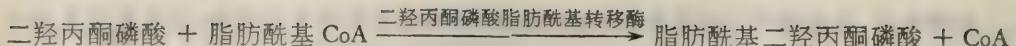
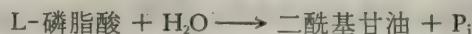


图 24-11 一种三酰基甘油的形成。给带前缀 Sn 的化合物命名时，按照立体特异性编号系统。一切天然的酰基甘油和磷酸甘油酯均由 Sn-甘油 3-磷酸衍生。请注意图中所用的投影公式。在纸张的平面中旋转 180° 就会同图 11-10 中的公式相等。

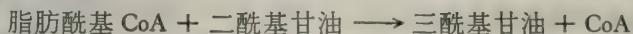


磷脂酸在细胞内的含量极微，但却是三酰基甘油和磷酸甘油酯生物合成中的重要中间产物。

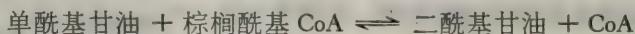
磷脂酸在形成三酰基甘油时，首先通过磷脂酸磷酸酶的水解作用而形成一种二酰基甘油（图 24-11）：



二酰基甘油然后通过二酰基甘油酰基转移酶（图 24-11）的作用与第三个脂肪酰基 CoA 分子反应而生成三酰基甘油。



在高等动物的肠粘膜内，当从肠中吸收脂肪酸时，三酰基甘油的合成非常活跃，此时另一类型的酰化反应开始起作用。在肠道内消化时所形成的单酰基甘油可以通过酰基甘油棕榈酰基转移酶的作用直接酰化，因此磷脂酸并不是一个中间产物。



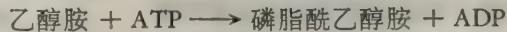
在动植物组织的贮存脂肪中，三酰基甘油通常都是混合的，即含有两种以上不同的脂肪酸，然而到底哪些酶促机制使这些不同的脂肪酰基团在三酰基甘油中具有特异的性质和位置，这方面我们几乎毫无所知。

磷酸甘油酯的生物合成

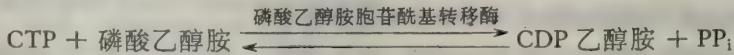
作为各种膜和运送脂蛋白组分的一些主要磷酸甘油酯，是通过两种不同的途径由磷脂酸形成的；一种途径主要见于高等动植物，而另一种途径见于某些细菌。在这两种途径中，胞苷酸都是作为载体，既是“为首”的醇基载体，也是磷脂酸的载体。E. P. Kennedy 及其同事们发现了脂类生物合成中胞苷酸的重要作用。下面我们来探讨动物组织中一些主要的磷酸甘油酯的生物合成过程。

磷脂酰乙醇胺

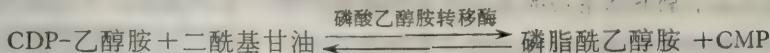
在动物组织中，磷脂酰乙醇胺的生物合成是在乙醇胺激酶的作用下从乙醇胺的磷酸化开始的：



下一步是磷脂酰乙醇胺和胞苷三磷酸（CTP）反应而生成胞苷二磷酸乙醇胺（磷酸乙醇胺的一种活化形式）（图 24-12）：



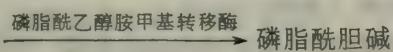
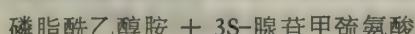
在最后一步中，胞苷二磷酸乙醇胺中的胞苷一磷酸部分被裂解出来，磷酸乙醇胺部分被转移到二酰基甘油上而形成磷脂酰乙醇胺：



催化这些反应的各种酶都位于内质网的膜内，并与这些膜紧密结合。

磷脂酰胆碱

在动物组织中，磷脂酰胆碱能够通过两种不同的途径形成。一种途径是磷脂酰乙醇胺的氨基在甲基供体 S-腺苷甲硫氨酸(图 24-13)的作用下直接甲基化，这个过程分三步，其总反应式是：



在动物组织中合成磷脂酰胆碱的第二种途径是由食用胆碱或从磷脂酰胆碱的酶促分解中回收的胆碱开始的。随后就是一系列与合成磷脂酰乙醇胺类似的反应：

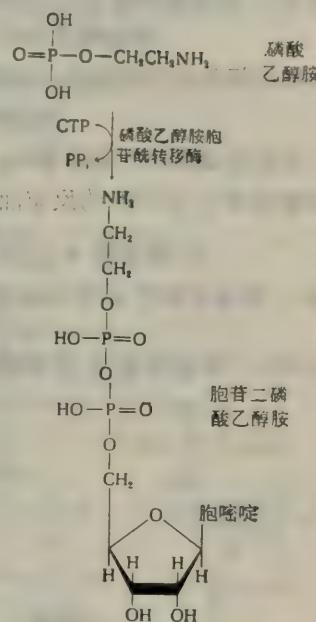
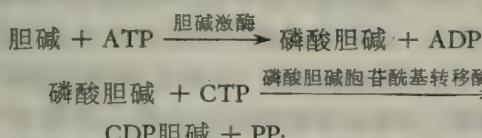


图 24-12 胞苷二磷酸乙醇胺的形成

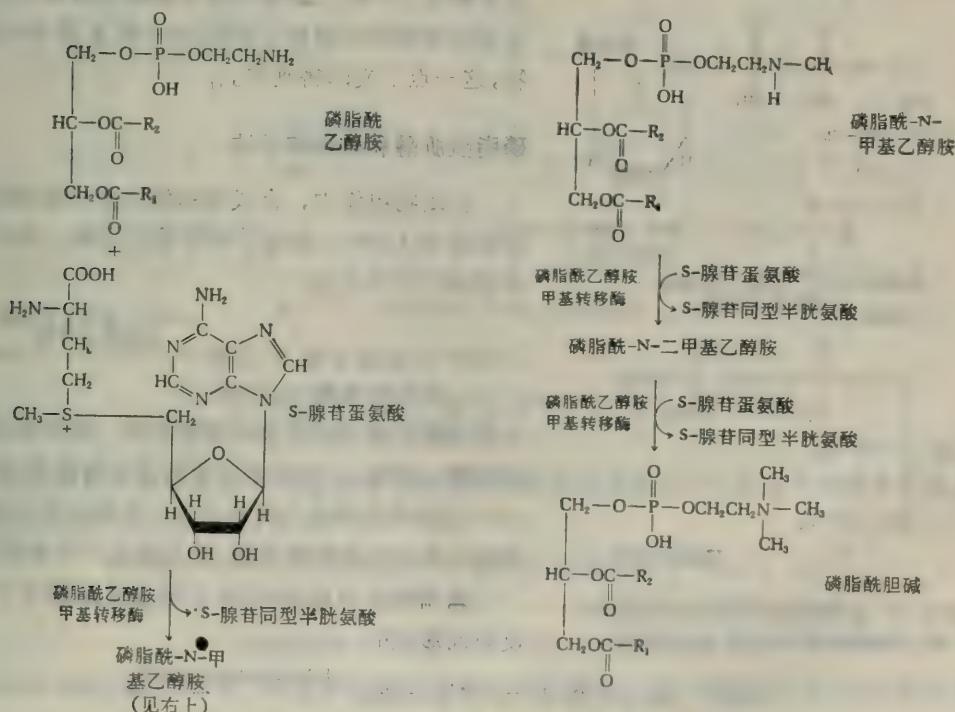


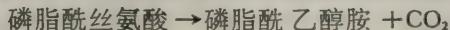
图 24-13 由磷脂酰乙醇胺变为磷脂酰胆碱的过程

磷脂酰丝氨酸

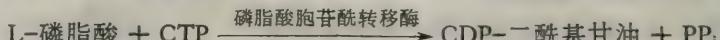
在动物组织中，磷脂酰丝氨酸是通过磷脂酰乙醇胺的“为首”醇基即乙醇胺和另一个醇基即 L-丝氨酸的醇基之间的酶促交换而形成的。



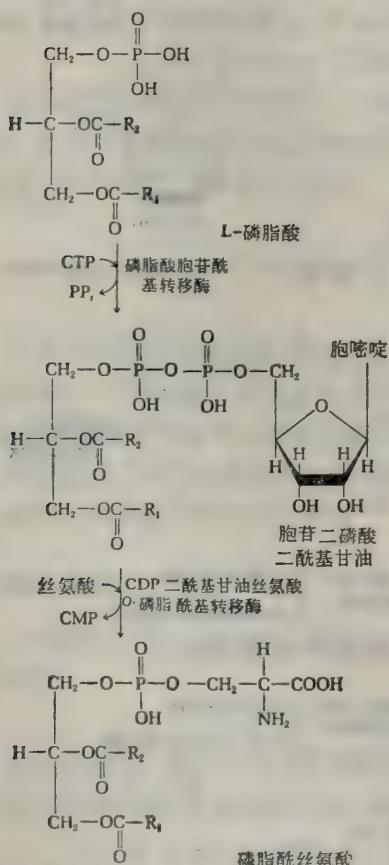
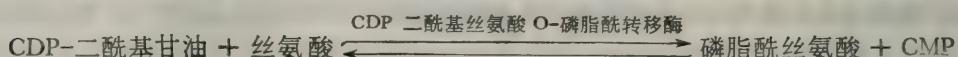
在动物组织和大肠杆菌内，磷脂酰丝氨酸可通过脱羧作用而生成磷脂酰乙醇胺：



在某些细菌如大肠杆菌内，磷脂酰丝氨酸通过另一条不同的途径形成；这时磷脂酸的磷酸根通过与 CTP 的反应而活化，结果形成胞苷二磷酸二酰基甘油（图 24-14）：



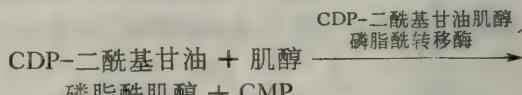
CDP-二酰基甘油然后与 L-丝氨酸反应形成磷脂酰丝氨酸



在大肠杆菌内催化这一反应的酶显然和核蛋白体相连系。CDP-二酰基甘油的 CMP 部分可看作是一个分子的磷脂酸的一种载体。值得注意的是，当磷酸乙醇胺或磷酸胆碱以 CDP-乙醇胺或 CDP-胆碱的形式而被激活时，就同二酰基甘油的游离羟基发生酯化。另一方面，当磷脂酸以 CDP-二酰基甘油的形式被活化时，则同丝氨酸的游离羟基发生酯化。CDP-二酰基甘油也是动物组织内生物合成其他种类的磷酸甘油酯的一种重要中间产物，这一点下文即将阐述。

磷脂酰肌醇和磷脂酰甘油

在动物组织中，合成磷脂酰肌醇和磷脂酰甘油都是用 CDP-二酰基甘油作为前身物。前者的合成通过以下反应：



由磷脂酰肌醇可以形成磷脂酰肌醇一磷酸和磷脂酰肌醇二磷酸。它们是肌醇残基的游离羟基被 ATP 连续两次磷酸化而形成的。在脑中存在这些磷酸化形式的磷脂酰肌醇；其功能还不完全清楚。

磷脂酰甘油是由 CDP-二酰基甘油通过下列反应而形成的

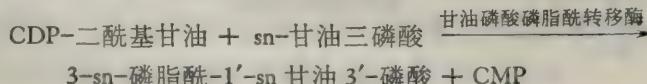
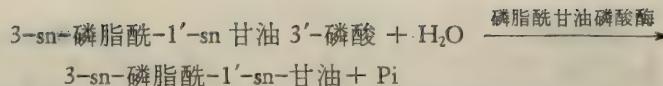
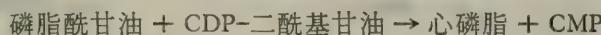


图 24-14 某些细菌体内磷脂酰丝氨酸的形成。磷脂酰肌醇形成的反应与此相同。



这样产生的磷脂酰甘油是通常称为心磷脂的二磷脂酰甘油的前身物。心磷脂通常占线粒体内膜的脂类的 20%，占细菌膜脂类的很大一部分。在动物组织中，其合成途径如图 24-15 所示。



在细菌内，心磷脂通过以下反应形成：

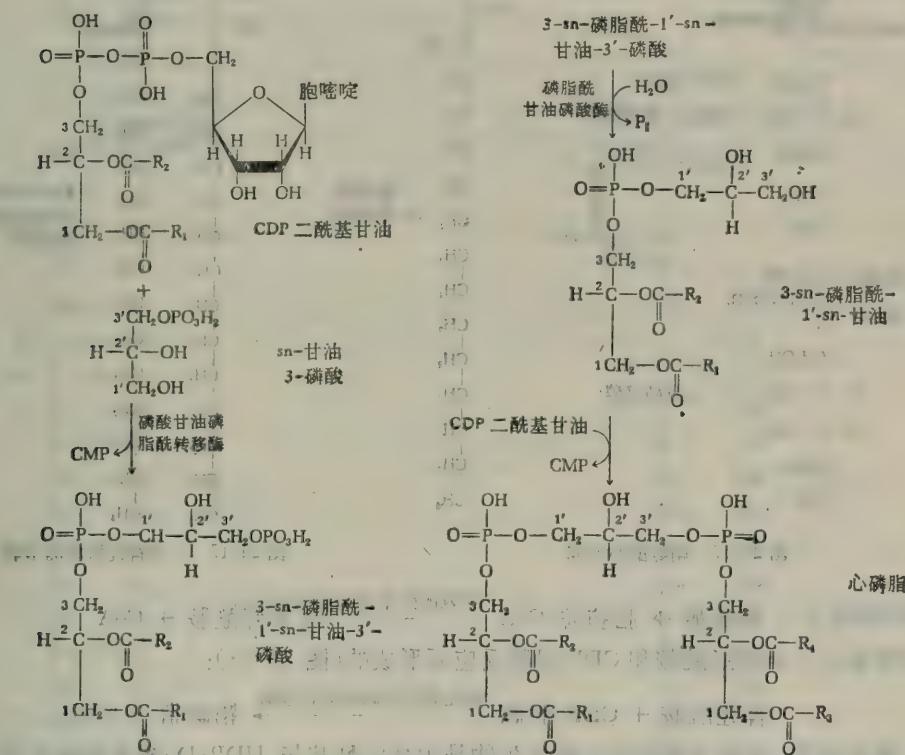
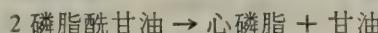
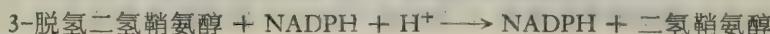
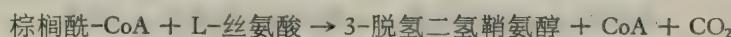


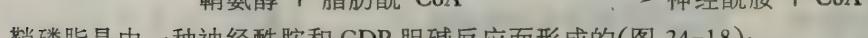
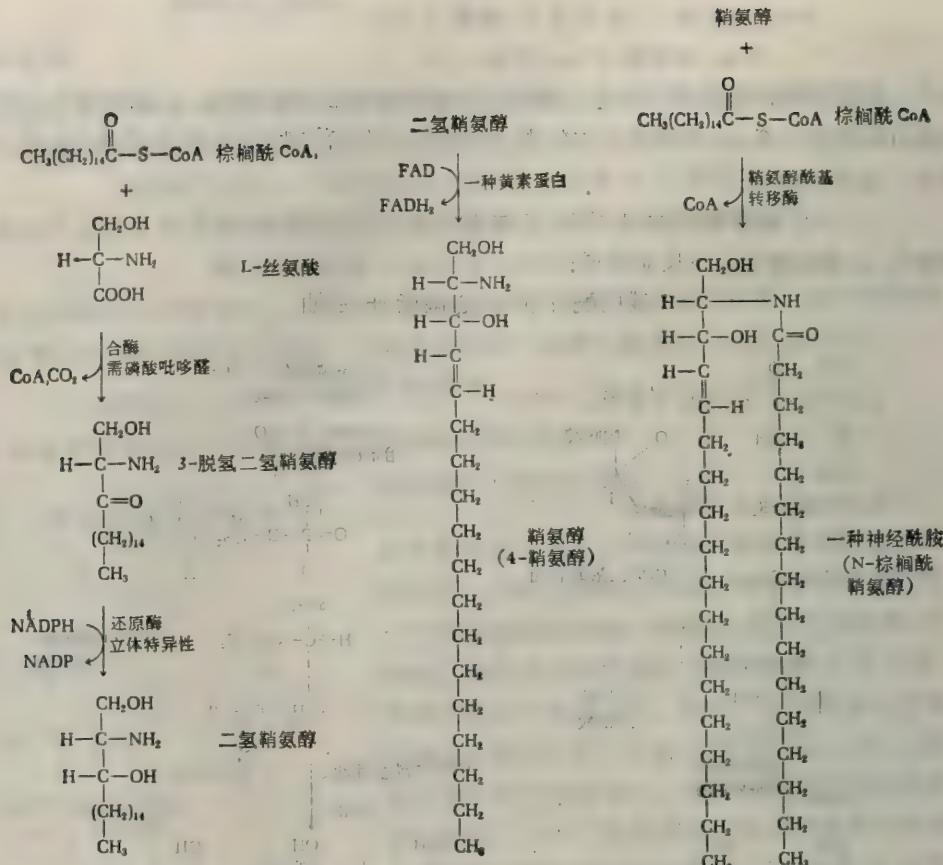
图 24-15 动物组织内心磷脂合成的途径

鞘磷脂和其它鞘脂类的生物合成

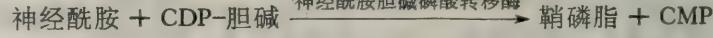
长链脂肪族胺鞘氨醇 4-鞘氨醇是鞘脂类的特有的基本单位，它通过下列顺序的酶促反应由棕榈酰-CoA 所形成(图 24-16)：



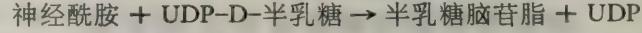
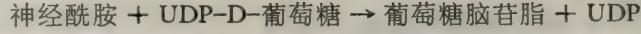
在鞘脂类合成的下一步中，鞘氨醇的氨基团被长链脂肪酰-CoA 所酰化而生成 N-酰基鞘氨醇，或称为神经酰胺(图 24-17)：



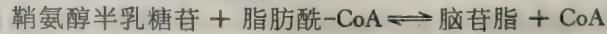
鞘磷脂是由一种神经酰胺和 CDP 胆碱反应而形成的(图 24-18):



脑苷脂类, 即神经酰胺的己糖衍生物是由神经酰胺与 UDP-D-葡萄糖或 UDP-D-半乳糖通过同样反应而形成的。



脑苷脂类也可以通过另外一条途径形成; 这时进入鞘氨醇内基团的取代次序不同。在这条途径中, 首先形成一种半乳糖取代的鞘氨醇, 称为鞘氨醇半乳糖苷, 然后酰化而形成脑苷脂。



神经节苷脂类是神经原细胞膜, 特别是在突触处的细胞膜的重要脂类。它由脑苷脂通过进一步加上许多半乳糖、半乳糖胺和 N-乙酰神经氨酸残基而形成。这些残基分别以 UDP-半乳糖、UDP-半乳糖胺和 CMP-N-乙酰神经氨酸的形式提供。

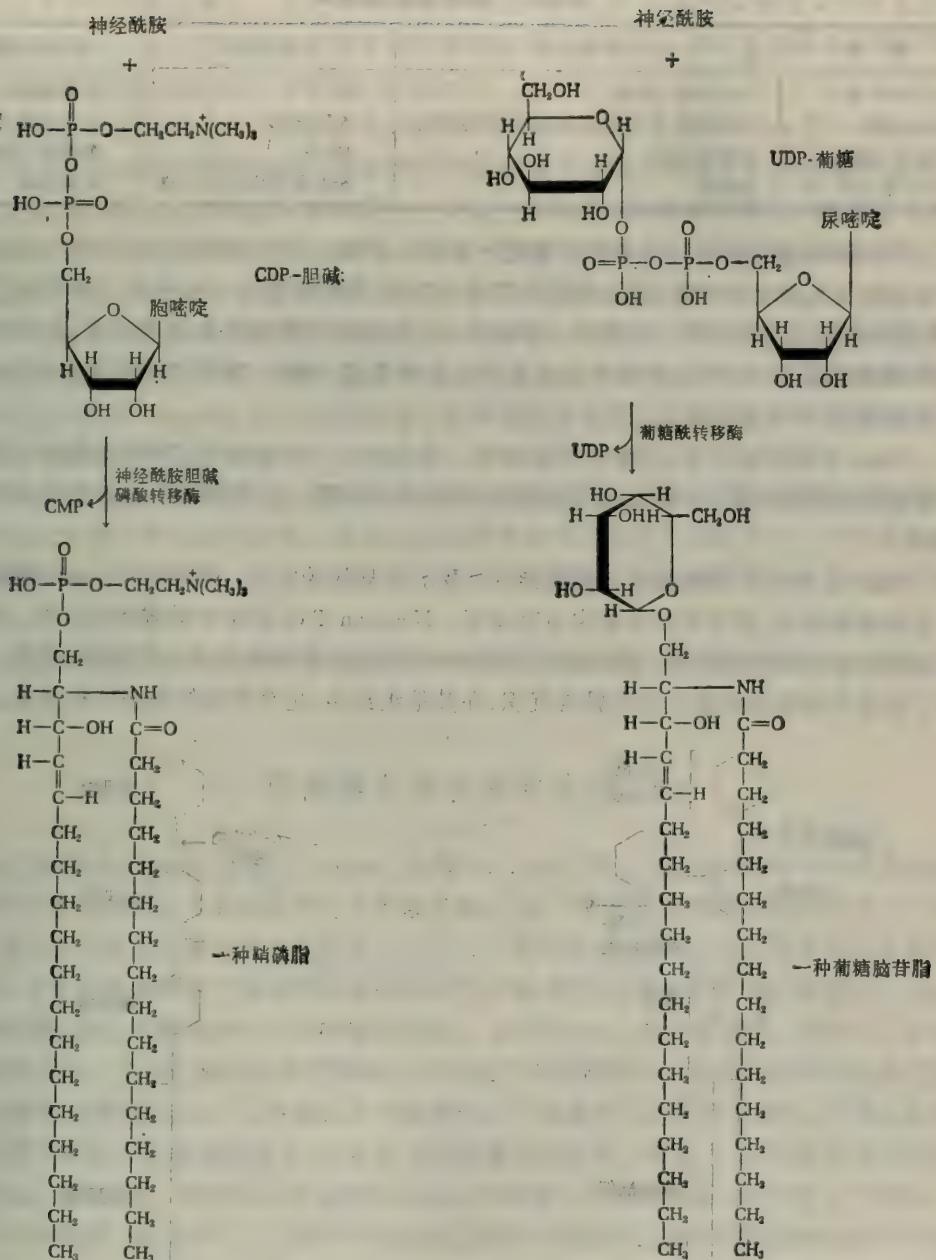


图 24-18 鞘磷脂的形成

图 24-19 一种葡萄糖脑苷脂的生物合成。注意葡萄糖残基第一个碳原子处构型的转化。

复杂脂类代谢中的遗传性紊乱

在人类中已发现有十二种以上的复杂脂类代谢的遗传性紊乱。这类紊乱，是由于某些复杂脂类在特定组织中不正常的积聚而形成的，也叫做脂类沉积疾病或脂类代谢障碍。（表 24-2）

表 24-2 遗传性脂类沉积疾病

病名	沉积的脂类	受损的器官	有缺陷的酶
Tay-Sachs 病	G _{M₁} 神经节苷脂	脑	己糖胺酶 A
Fabry 氏病	半乳糖基-半乳糖基-葡萄糖基-神经酰胺	全身器官	α -半乳糖苷酶
Gaucher 氏病	葡萄糖脑苷脂	脾、肝	葡萄糖脑苷脂酶
Niemann-Pick 病	鞘磷脂	全身器官特别是肝、脾	鞘磷脂酶

Tay-Sachs 病是引起公众特别注意的一种病，因为出现在东欧的犹太人中，它的发病率远远超过其他受检种族；在纽约城的犹太人口中，据估计每三十人中有一个带有引起此病的隐性基因。此病的特点是脑中一种称为 G_{M₁} 的神经节苷脂的含量异常高，此种神经节苷脂具有如图 24-20 所示的极性的头基团。发育迟缓、瘫痪、痴呆和失明是此病的症状；患者常常在 2—4 岁时死亡。

Fabry 氏病比较罕见；它属于母系遗传。患此病时一种糖鞘脂，即半乳糖基半乳糖基葡萄糖基神经酰胺（图 24-21），在很多组织中异常地积聚；患者常死于心力衰竭或肾功能衰竭。

Gaucher 氏病有葡萄糖脑苷脂类的异常沉积。此病较为常见。虽在 Ashkenazi 的犹太人中发病率特别高，但在很多种族中也有发现。Niemann-Pick 病中有鞘磷脂的沉积。差不多在所有的脂类沉积疾病中，智力发育迟缓和神经系统功能障碍都是主要症状；显然，这是由于脂类在脑和神经组织内的异常沉积；在其他组织中，也有严重的脂类沉积现象。

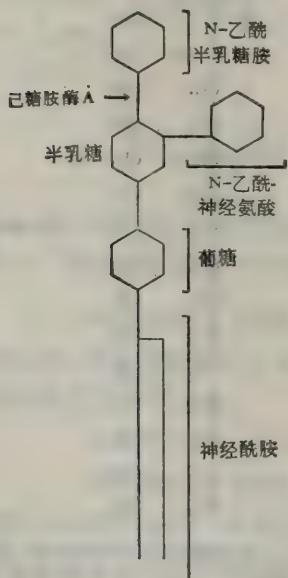


图 24-20 神经节苷脂 G_{M₁} 的示意图。在 Tay-Sachs 病中由于己糖胺酶 A 的遗传缺陷 G_{M₁} 积聚。己糖胺酶 A 是一种水解酶，能除掉 N-乙酰半乳糖胺残基。

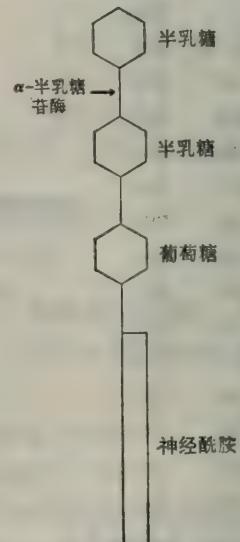


图 24-21 Fabry 氏病时三己糖酰神经酰胺的积聚。这种积聚是一种 α -半乳糖苷酶遗传性缺陷的后果。这种酶正常时能除去末端的半乳糖残基。

当这些疾病中不正常脂类的化学性质被确定以后，就产生了一个非常重要的问题：脂类沉积疾病的发生是否是这些脂类合成率过高而分解率却正常的结果呢？还是由于分解率过低而合成率却基本正常呢？一直到最近确定了这些脂类合成和分解的酶促机制后，

这个问题才有可能接近解决。通过外科活组织检查从病人身上(或尸体解剖从尸体上)取得小块组织标本，分析有关的酶活性并用显微镜检查。或者将活组织检查标本的成纤维细胞在生长培养基中进行体外培养，然后作分析。

通过很多实验室内的这类研究，特别是 R. O. Brady, J. S. O'Brien 及 L. Svennerholm 等人的实验室内的研究成果，我们现在搞清楚了主要的脂类沉积疾病的酶学基础。所有这些疾病都是由于在脂类降解过程中一个或一个以上的酶有遗传缺陷，而脂类生物合成途径和速率却基本正常。Tay-Sachs 病是由于己糖胺酶 A 有缺陷；此酶在正常情况下能引起 G_M 神经节苷脂的 N-乙酰半乳糖胺残基加水裂解。(图 24-20)

Fabry 氏病是由于 α -半乳糖苷酶有缺陷；此酶在正常情况下能引起半乳糖基半乳糖基葡萄糖基神经酰胺(图 24-21)的半乳糖残基加水裂解。Gaucher 氏病是由于葡萄糖脑苷脂酶的活性欠缺；而 Niemann-Pick 病则是由于鞘磷脂酶有缺陷；此酶能催化鞘磷脂水解成为磷酰胆碱和神经酰胺。

正常人体内这些酶都存在于溶酶体中，已知溶酶体含有包括核糖核酸酶和几种蛋白酶在内的大约四十种不同水解酶。在脂类沉积病患者受损细胞的溶酶体中，不仅缺乏此类降解酶中的一种或多种，而且溶酶体的结构也明显异常。因此脂类沉积病常叫做溶酶体病。

对脂类沉积病的早期诊断和对患者父母作遗传学的咨询，是控制此病的唯一建设性方法。

胆固醇生物合成的途径

由于美国 K. Bloch、德国 F. Lynen、英国 G. Popjak 和 J. Cornforth 等人卓有成效的研究，我们今天对酶促合成胆固醇的大多数步骤，已经了解得相当清楚。他们对这个一共需要大约 25 个反应步骤的复杂过程进行了引人入胜的分析，从而发现了很多新的代谢中间产物，并且清楚地阐明了其他很多复杂的天然产物，特别是萜类的生物合成模式。这些成就的取得，是从本世纪四十年代初期开始的。当时 Bloch 及其同事证明，将标记了碳的乙酸喂养大鼠，这些乙酸的碳原子都掺入到大鼠肝的胆固醇中。还发现胆固醇的类固醇核和八碳侧链都被标记上了。用标记了甲基和标记了羧基的乙酸进行实验时，发现乙酸的两个碳原子都掺入到胆固醇去了，并且掺入的数量大致相等。事实上，胆固醇所有的碳原子都是由乙酸来的。对用生物学方法标记的胆固醇进行系统的降解，就弄清了它的每一个碳原子的来源(图 24-22)。这种标记的模式就成为阐明从乙酸合成胆固醇的途径的指

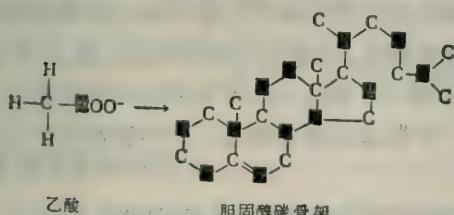


图 24-22 乙酸的碳原子渗入胆固醇，胆固醇的所有碳原子都是以图示的方式来自乙酸。

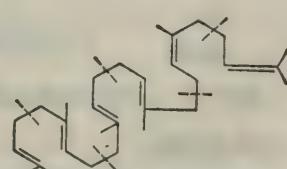


图 24-23 蜡烯，用可以提示它如何折叠而成为胆固醇的前身物的形式表示。虚线表示异戊二烯单位。

针。

R. G. Langdon 和 K. Bloch 发现在胆固醇生物合成中，鲨烯是一种中间产物。这是弄清这一途径的本质的一个重要线索。鲨烯是一种开链类异戊二烯碳氢化合物，或者说得更具体些，一种二氢三萜化合物(图 24-23)。这一碳氢化合物在鲨鱼肝中首先发现，大多数高等动物的肝中也有少量存在。当用标记了碳的乙酸喂养动物时，其肝中的鲨烯都被普遍标记上了。当用生物学方法标记了的这种鲨烯来喂养动物或者和小片肝组织一起培养时，大部分同位素都掺入到胆固醇内。这种掺入率非常高，以致可以肯定，鲨烯是胆固醇的一个相当直接的前身物。因此，这些观察强烈提示胆固醇的类固醇核(具有四个稠环)是由开链烃鲨烯环化而生成的。(图 24-23)

然而，当一种由乙酸形成的代谢物，甲羟戊酸，在其它领域工作中被发现以前，由乙酸形成鲨烯的异戊二烯单位的机制还是一个谜。某些细菌需要乙酸作为一种生长因素。仔细研究这些细菌的营养需要时，发现一种当时还没确定的有机酸可代替乙酸作为生长因素。这种有机酸存在于许多不同的自然来源包括哺乳动物的肝。此种可代替乙酸的生长因素

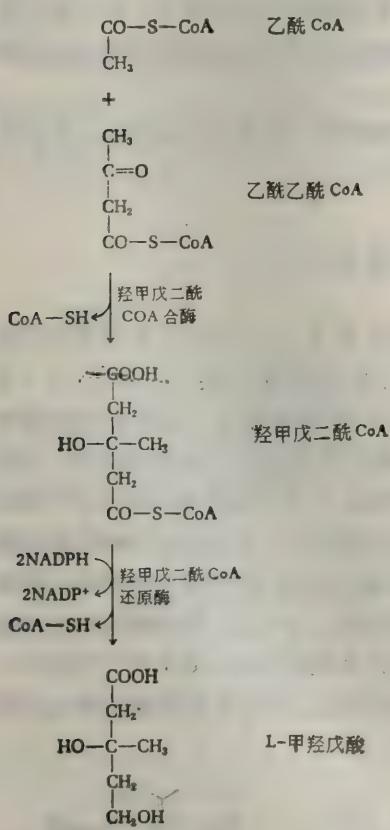


图 24-24 L-甲羟戊酸的形成

而产生甲羟戊酸。

β -羟基- β -甲基戊二酰 CoA + 2NADPH + 2H⁺ → 甲羟戊酸 + 2 NADPH⁺ + CoA
这一复杂反应是胆固醇生物合成的一个重要控制点。

甲羟戊酸的形成还有另一条途径，在原理上它与上述途径是相同的，但这时乙酰 CoA

很快就被分离出来，并确定为甲羟戊酸(图 24-24)。从理论上说，这种六碳酸显然能够通过脱羧作用而产生五碳异戊二烯单位。当将同位素标记的甲羟戊酸和肝组织切片一起保温时，发现这种有机酸大量掺入鲨烯和胆固醇中。又将标记的乙酸和肝组织切片一起保温，结果表明乙酸碳是甲羟戊酸的一个直接前身物。这些实验为进一步详细研究乙酸变成甲羟戊酸，后者再变成鲨烯，鲨烯最后变成胆固醇这些过程的酶促机制提供了条件。

乙酸转变成甲羟戊酸

甲羟戊酸是由三个分子的乙酰 CoA 缩合生成的。这个过程的关键中间产物是 β -羟基- β -甲基戊二酰 CoA(HMG-CoA)。它的形成途径如下：
乙酰 CoA + 乙酰乙酰 CoA $\xrightarrow{\text{羟甲基戊二酰 CoA 合酶}}$
 β -羟基- β -甲基戊二酰 CoA + CoA + CO₂
 β -羟基- β -甲基戊二酰-CoA 能够经历两个反应：它可裂解生成乙酰乙酸和乙酰 CoA，这种情况在前面已经叙述过；它也可在羟甲基戊二酰 CoA 还原酶的作用下，通过一个不可逆的两步还原反应将它的一个羟基还原为醇基，并伴随着失去 CoA

与乙酰乙酰-ACP 反应而形成 β -羟基- β -甲基戊二酰-ACP，然后它再还原为甲羟戊酸。这条途径是在细胞溶质内进行的。

甲羟戊酸转变为鲨烯

这一序列反应是从甲羟戊酸在 ATP 的参加下进行磷酸化作用开始的，首先，甲羟戊酸变成 5'-单磷酸酯，然后再变成 5'-焦磷酸酯(图 24-25)。在第三个碳原子上第三次磷酸化作用产生一种很不稳定的中间产物。这种中间产物失去磷酸并且脱羧生成 3-异戊烯焦磷酸；再经异构化作用而形成 3,3 二甲烯丙基焦磷酸。这两种同分异构的异戊二烯焦磷酸然后通过缩合除去焦磷酸而生成单萜类衍生物牻牛儿酰焦磷酸。然后另一个分子的异戊烯焦磷酸又发生反应，再次除去焦磷酸而生成倍半萜类衍生物法呢基焦磷酸(图 24-26)。这种化合物的两个分子在一种微粒体酶的作用下缩合生成前鲨烯焦磷酸(图 24-27)；后者被 NADPH 还原而生成鲨烯和焦磷酸。

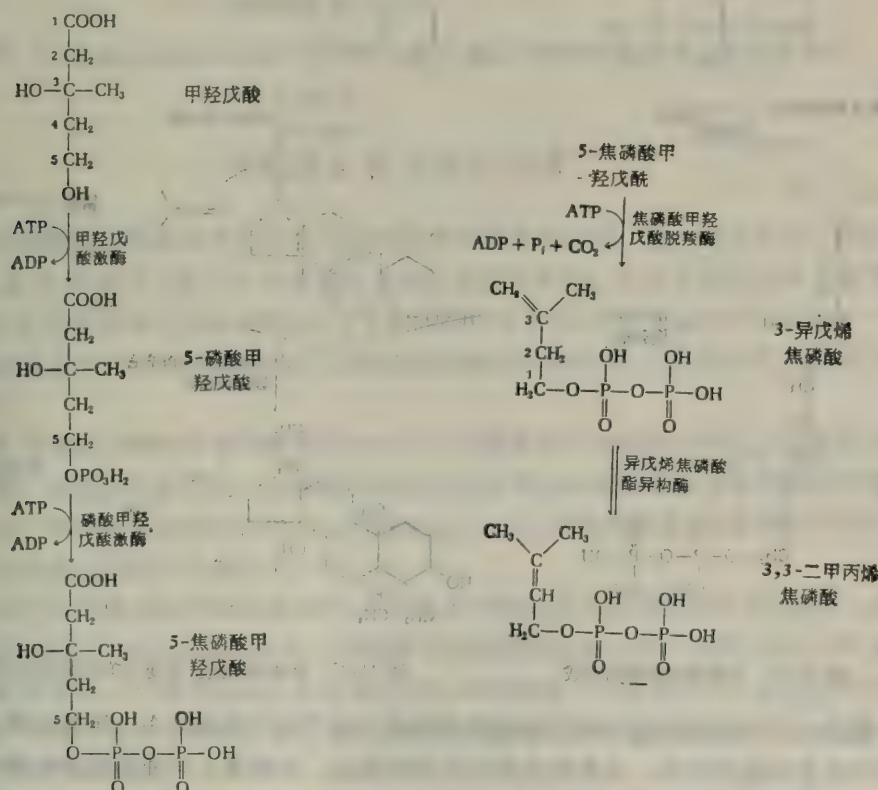


图 24-25 由甲羟戊酸变成同分异构的戊烯焦磷酸酯的途径

鲨烯变成胆固醇

在胆固醇生物合成的最后一个阶段中，鲨烯受到分子氧的作用而生成鲨烯 2,3 环氧化物。这一反应是由鲨烯单氧酶催化的 2,3 环氧化。鲨烯 2,3-环氧化物然后发生环化而生成羊毛固醇(图 24-27)。这是形成的第一个固醇。在这一不平常的反应中，一系列协

2 法尼基焦磷酸

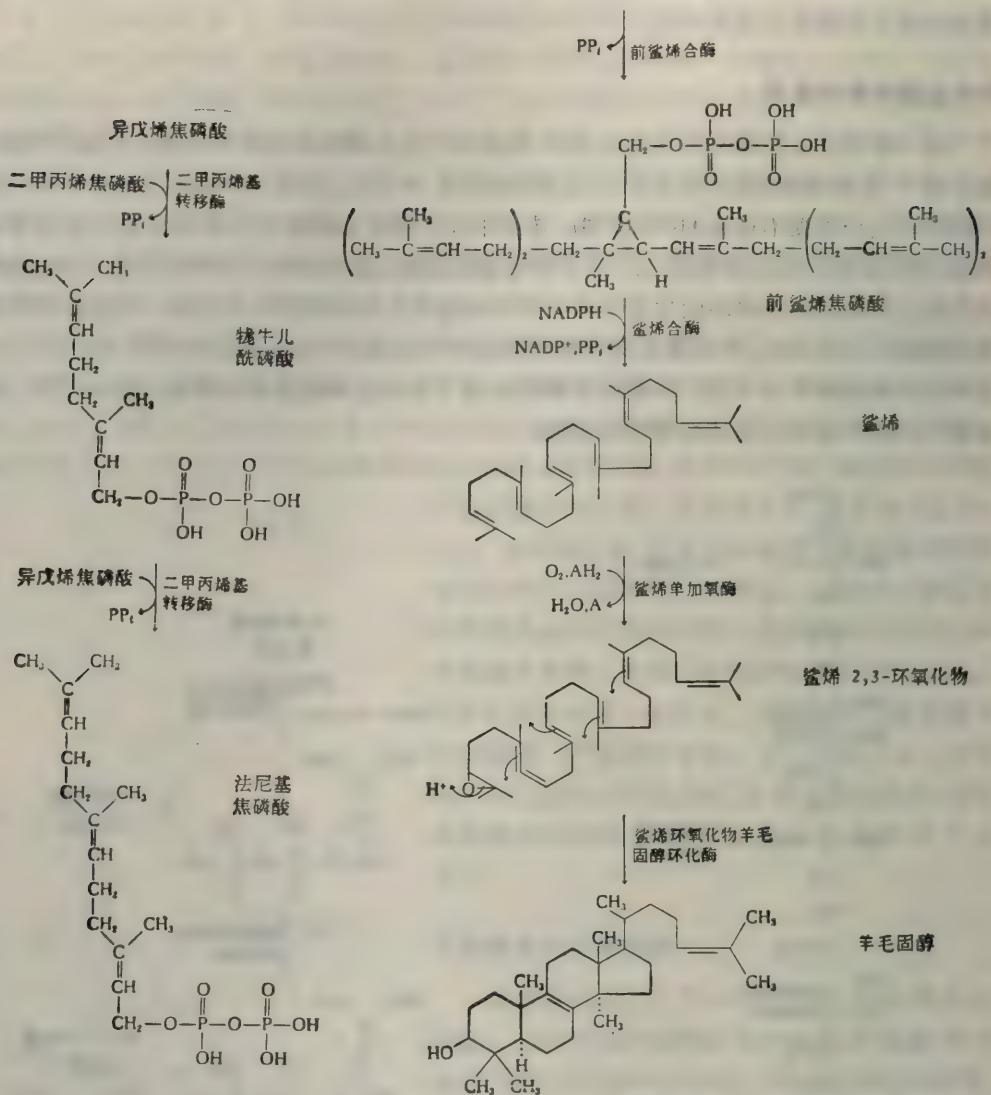


图 24-26 法尼醇焦磷酸的形成

图 24-27 鲨烯的形成及其变为羊毛固醇的过程

调一致的 1,2 甲基团和氢化物沿着鲨烯链移动引起了四个环的闭合；甲基的移动已由适当的同位素实验所证实。这些反应发生在微粒体内，但需要来自细胞溶质的两种蛋白参加。其中一种称为固醇载体蛋白 1 在与微粒体中的鲨烯单氧酶相互作用以前，就在辅助因子磷脂酰丝氨酸和 FAD 的参与下，用来同鲨烯结合。

羊毛固醇变成胆固醇包括：去掉三个甲基（两个从第四碳原子去掉，一个从第十四碳原子去掉）；侧链双键的饱和化；以及 B 环中 8,9 位置的双键移到 5,6 位置。由于 7-脱氢胆固醇和 24-脱氢胆固醇转变成胆固醇的比例都很高，因此很明显，羊毛固醇变成胆固醇的道路有两条（图 24-28）。固醇载体蛋白 2 用来结合 7-脱氢胆固醇。

真菌和植物的固醇类，例如麦角固醇和豆固醇，也按如上同样机制合成。

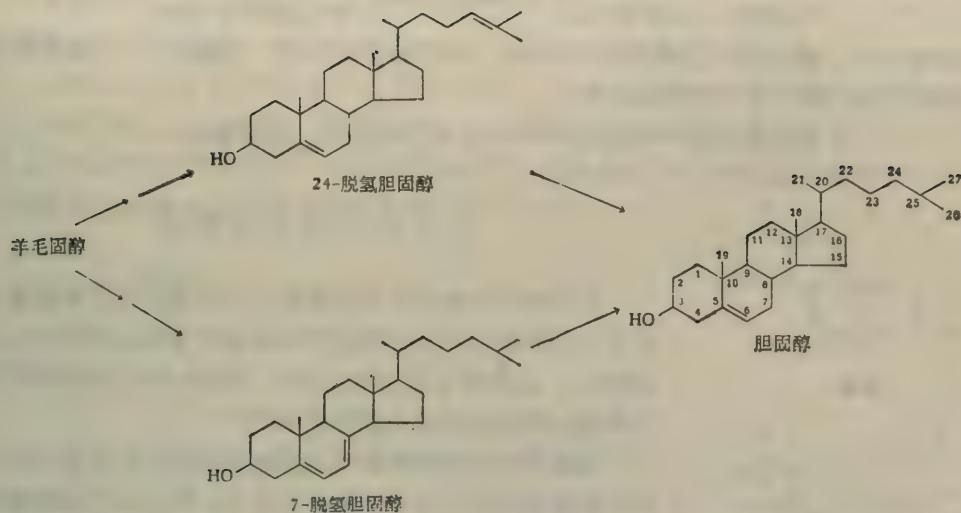


图 24-28 羊毛固醇变成胆固醇的过程。可能有两条途径：通过 7-脱氢胆固醇那条途径是更为重要的。

胆固醇生物合成的调节

肝内胆固醇的生物合成可由饮食中的胆固醇和禁食所抑制，这一效应是由于抑制了肝中 β -羟基- β -甲基戊二酰 CoA 还原酶的生物合成所引起的。但是看来胆固醇本身并不是抑制剂。已经有各种不同的推测，认为含胆固醇的脂蛋白、胆汁酸或胆汁中某种专一蛋白质可能是真正的抑制剂。禁食也可以抑制胆固醇的生物合成，但是高脂肪饮食则加速合成过程。

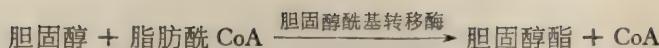
在几乎所有检查过的各种动物和组织中都已经观察到在喂食胆固醇时可抑制胆固醇的生物合成。但值得注意的是，在癌细胞中却完全不存在这类胆固醇生物合成的反馈抑制。虽然这一事实在癌细胞代谢经济中的意义还不清楚，但值得注意，这是恶性细胞内若干有缺陷或有修改的调节机制中的一种。

哺乳动物体内胆固醇的转运和储存，受到很多目前尚不十分清楚的机制的调节；这些过程有缺陷，就会引起病理上的异常。胆固醇和其他脂类经常沉积于血管内壁，这种情况称为动脉粥样硬化。它常可引起心脏血管和脑血管的堵塞，分别表现为心脏病发作和中风。因此，目前很多研究都致力于更好地了解胆固醇和其他血脂类的生物合成、运输、降解和排泄的调节和控制。

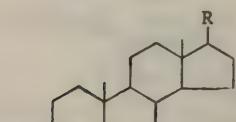
在遗传性疾病如家族性血胆固醇过高和黄瘤病时，血中胆固醇浓度异常升高；在黄瘤病的情况下，富有胆固醇的脂类沉积也会在皮肤内形成。

胆固醇酯的合成

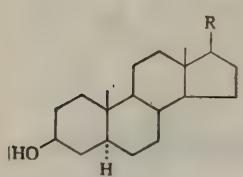
在高等有机体的组织中，大多数胆固醇在 3-羟基上与长链脂肪酸酯化。肝脏中含有—种酶能通过以下反应促进胆固醇酯的形成。



胆固醇酯也可以由血浆中的磷脂酰胆固醇酰基转移酶催化形成；此酶催化一个脂肪酰基由磷脂酰胆碱的第2位置转到胆固醇。



粪醇



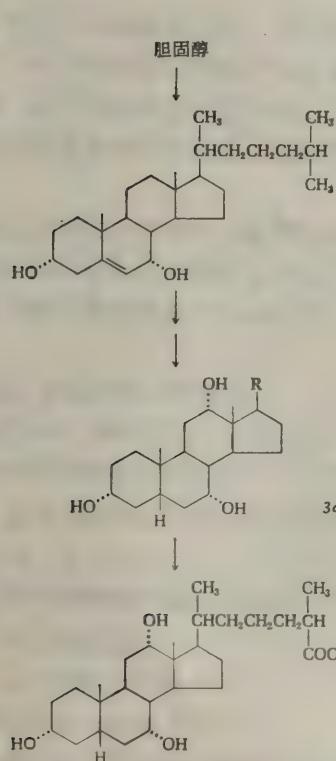
二氢胆固酮

图 24-29 两种粪固醇。R 表示胆固醇的八碳侧链。

其它类固醇类的形成

胆固醇是动物体内粪固醇类、胆汁酸和类固醇激素的前体。胆固醇、粪醇、二氢胆固醇是哺乳动物主要排泄出的固醇类。后两者又是立体异构体（图 24-29），都是通过微生物的作用在肠内由胆固醇变来的。

动物体内胆固醇降解的主要途径是变成胆汁酸，胆汁酸的构造随动物种类不同而各有特点。胆汁酸在其侧链都有一个羧基，此羧基常通过酰胺键与甘氨酸或牛磺酸（乙醇胺磺酸）结合。这些胆汁酸都是在肝中形成，分泌入小肠中，在小肠中变成乳糜粒（由小量蛋白质稳定的三酰基甘油微粒）而帮助脂类的吸收。在脂类吸收时，胆汁酸大部



$3\alpha,7\alpha,12\alpha$ 三羟粪烷

三羟粪烷酸



图 24-30 胆酸的形成及其变为甘氨胆酸的过程

分又被重吸收。胆汁酸的分泌和重吸收循环称为肠肝循环。图 24-30 列举了一种胆汁酸，即胆酸，以及其酰胺取代化合物甘氨胆酸和牛磺胆酸等形成的主要步骤。

由胆固醇形成类固醇激素的过程中先形成一个中间产物——孕烯醇酮（图 24-31）。它含有胆固醇核，但只有一个二碳侧链。孕烯醇酮是胎盘和黄体的妊娠激素孕酮的前身物，也是雄激素或男性激素（如睾丸酮和雄酮）、雌激素或女性激素（如雌酮和雌二醇）、肾上腺皮质类固醇（如皮质酮和醛固酮）的前身物。

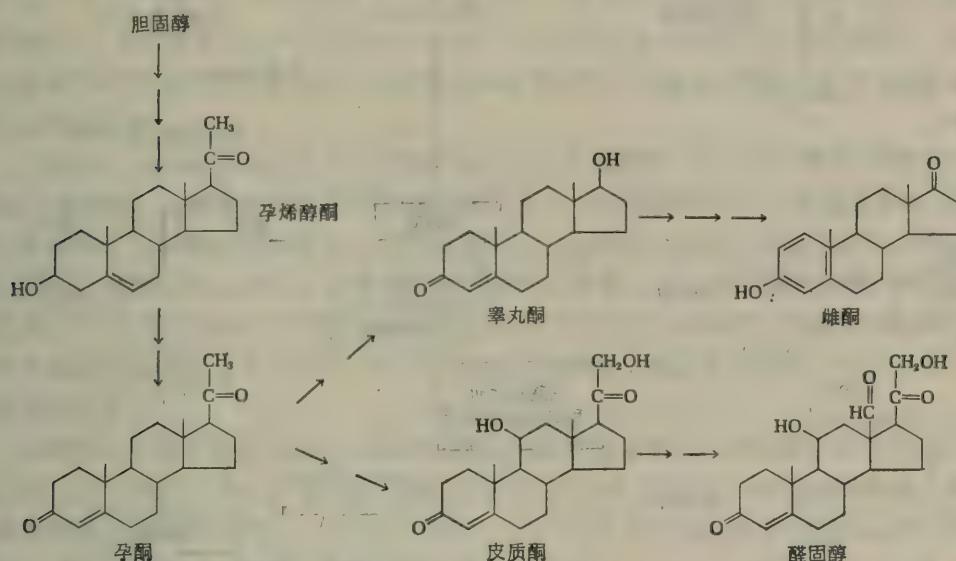


图 24-31 一些类固醇激素的形成。箭头的个数并不表示所经历的步骤的数目，而只是表示要经历几个步骤。

前列腺素的生物合成

前列腺素是某些具有 20 个碳原子的不饱和脂肪酸的环状衍生物。它们存在于很多动物组织中，并且具有很多广泛的激素样的生理和药理效应。目前已知有很多天然的和合成的前列腺素。并根据它们从各种不同的不饱和脂肪酸衍生来的结构差异而分类。

前列腺素的生物合成从必需脂肪酸开始。在一个典型的途径中，必需脂肪酸亚油酸首先变成二十碳的花生四烯酸（图 24-32），然后通过前列腺素合酶（一种二加氧酶）的作用，将两个氧分子分别加到花生四烯酸的第 9 碳原子和第 15 碳原子上。这样形成的产物再在第 8 和第 12 碳原子间形成一个键而环化（图 24-32）。在还原型谷胱甘肽的参与下此种环化物又变成前列腺素 PGE_2 。其它类型的前列腺素都是从其它多不饱和 C_{20} 酸衍生来的。

各种不同前列腺素的作用已在前面归类总结。前列腺素经过氧化降解而变成无活性的排泄物。

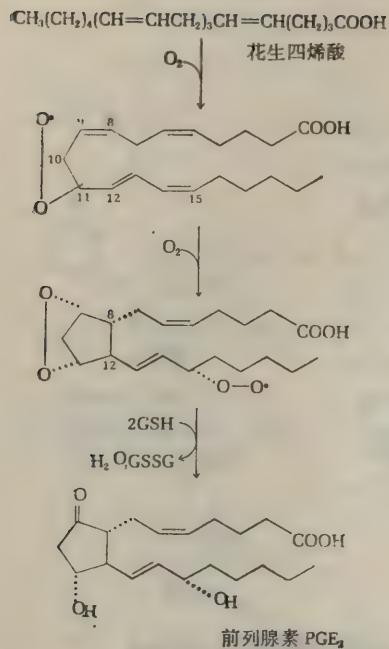


图 24-32 由花生四烯酸形成前列腺素 PGE₂。除了氧外,还需一个电子供体——GSH。GSH 表示还原型的谷胱甘肽。

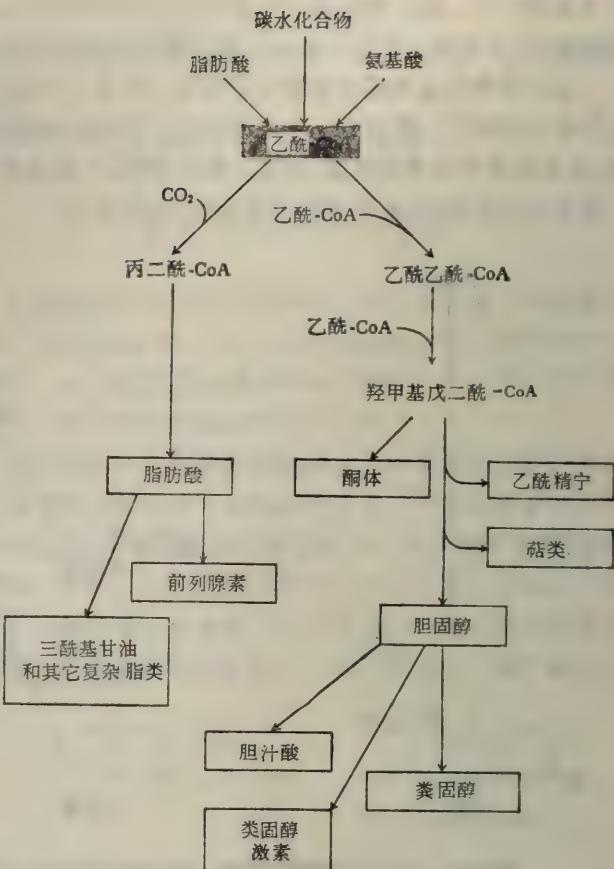


图 24-33 在许多不同脂类的生物合成中,乙酰 CoA 是一个关键前生物。

乙酸作为脂类生物合成的前身物的重要作用

以乙酰 CoA 形式出现的乙酸,不但是脂肪酸、类固醇类和前列腺素类的前身物,而且也是其他很多天然化合物特别是萜类和乙酰精宁的前身物。二者都是由二碳单位聚合而成的,在这种二碳单位中,其中一个相当于乙酸的羧基碳的碳原子经常被氧化。图 24-33 的图解显示出乙酰 CoA 作为这些产物的前身物的重要作用。

摘 要

长链饱和脂肪酸棕榈酸是由一种酶复合物,即细胞溶质中的脂肪酸合成酶系所合成的。这种酶复合物利用一种含有泛酰巯基乙胺的蛋白即酰基载体蛋白(ACP)作为酰基载体。丙二酰 CoA 是通过乙酰 CoA 羧化酶的作用由乙酰 CoA 和 HCO₃⁻形成的,它是棕榈酸的八个二碳单位中的七个的直接前身物。由乙酰 CoA 形成的乙酰 ACP 与由丙二酰 CoA 衍生来的丙二酰 ACP 反应生成乙酰乙酰 ACP 与 CO₂。乙酰乙酰 ACP 还原生成 β -羟

基衍生物，后者再经过脱水作用而生成 Δ^2 不饱和化合物，然后又在消耗 NADPH 的情况下还原生成丁酰 ACP。六个以上的丙二酰 ACP 分子向正在延长的脂肪酸链的羧基末端上，一个接一个发生反应，最后形成通常的终末产物棕榈酰 ACP。棕榈酸是所有其它长链饱和及不饱和脂肪酸的前身物。棕榈酸在线粒体内和微粒体内，分别与乙酰 CoA 和丙二酰 CoA 的残基连续发生反应而使碳链延长。棕榈酸和硬脂酸在动物体内通过一种需要 NADPH 作为辅还原剂的含有细胞色素 b₅ 的加氧酶系的作用而分别形成棕榈油酸和油酸。在细菌中，单不饱和脂肪酸是由 β -羟基癸酰 ACP 通过 Δ^2 脱水作用而形成的，然后延长碳链。多烯酸是通过去饱和加氧酶的进一步作用由油酸和棕榈油酸形成的。亚油酸和亚麻酸在植物体内容易合成，而在哺乳动物体内则不能合成，需要由膳食中供给，故都是必需脂肪酸。

三酰基甘油的形成通过以下一系列反应：两分子脂肪酰 CoA 与甘油 3-磷酸反应而形成 L-磷脂酸；L-磷脂酸脱磷酸后再通过第三个分子的脂肪酰 CoA 的作用而酰化。磷脂酸也是磷酸甘油酯的主要前身物。在动物体内，它与胞苷二磷酸乙醇胺反应而生成磷脂酰乙醇胺。后者可能在消耗 S-腺苷蛋氨酸的情况下甲基化而生成磷脂酰胆碱；磷脂酰胆碱也能由 CDP 胆碱和磷脂酸形成。磷脂酸可与 CTP 反应而形成胞苷二磷酸二酰基甘油，后者是磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇和心肌类脂的前身物。磷脂酰丝氨酸又可以脱羧而生成磷脂酰乙醇胺。

鞘氨醇是鞘脂类特有的碱基，是由棕榈酰 CoA 和丝氨酸反应形成的。鞘氨醇被长链脂肪酰 CoA 所酰化而生成一种神经酰胺，后者再与 CDP 胆碱反应而生成鞘磷脂。脑苷脂类也可以通过神经酰胺与 UDP-葡萄糖或 UDP-半乳糖反应而形成，或通过另一种途径，由一种己糖取代的鞘氨醇，即鞘氨醇半乳糖苷开始。

由乙酸形成胆固醇通过三个主要阶段：第一阶段乙酰 CoA 经过 β -羟基- β -甲基戊二酰 CoA 而形成甲羟戊酸。第二阶段甲羟戊酸再变为同分异构物 3-异戊烯焦磷酸和二甲丙烯焦磷酸。这两者又缩合成牻牛儿焦磷酸。然后又变成鲨烯的直接前身物——法尼醇焦磷酸在第三阶段中，鲨烯经过环化而生成羊毛固醇，最后生成胆固醇。胆固醇又是胆汁酸、粪固醇和类固醇激素的前身物。

前列腺素是由必需脂肪酸及其衍生物通过需氧的闭环反应而合成的。

参 考 文 献

书籍

- Ansell, G. M., J. N. Hawthorne, and R. M. C. Dawson: *Form and Function of Phospholipids*, 2d ed., Elsevier, New York, 1973. A comprehensive and valuable treatise.
- Dorfman, R. I., and F. Ungar: *Metabolism of Sex Hormones*, Academic, New York, 1965.
- Greenberg, D. M. (ed.): *Metabolic Pathways*, 3d ed., vol. II, Academic, New York, 1968. Contains reviews of fatty acid and lipid biosynthesis.
- Hasiewood, G. A. D.: *Bile Salts*, Methuen, London, 1967. The evolution and comparative biochemistry of bile salts, reviewed in brief, readable form.
- Richards, J. H., and J. B. Hendrickson: *Biosynthesis of Steroids, Terpenes, and Acetogenins*, Benjamin, Menlo Park, Calif., 1964. The organic approach to problems of biosynthesis.
- Stanbury, J. B., J. B. Wyngaarden, and D. S. Fredrickson (eds.): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 3d ed., McGraw-Hill, New York, 1972. Genetic disorders of lipid metabolism are treated in detail.
- Sweeley, C. C. (ed.): *Chemistry and Metabolism of Sphingolipids*, North-Holland, Amsterdam, 1970.

论文

- Beytia, E., A. A. Qureshi, and J. Porter: "Squalene Synthetase: Mechanism of the Reaction," *J. Biol. Chem.*, 248: 1856—1867 (1973).
- Bloch, K.: "The Biological Synthesis of Cholesterol," *Science*, 150: 19—28 (1965). Nobel award address; a historical recapitulation and experimental narrative.
- Bosch, H. Van Den: "Phosphoglyceride Metabolism," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 243—278 (1974).
- Brady, R. O.: "Inborn Errors of Lipid Metabolism," *Adv. Enzymol.*, 38: 293—316 (1973).
- Deppsey, M. E.: "Regulation of Steroid Biosynthesis," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 967—990 (1974).
- Fulco, A. J.: "Metabolic Alterations of Fatty Acids," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 215—241 (1974).
- Gatt, S., and Y. Barenholz: "Enzymes of Complex Lipid Metabolism," *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 61—90 (1973).
- Kennedy, E. P.: "The Metabolism and Function of Complex Lipids," *Harvey Lect.*, 57: 143—171 (1962). Short review of early research.
- Lane, M. D., J. Moss, and S. E. Polakis: "Acetyl Coenzyme A Carboxylase," *Curr. Top. Cell. Regul.*, 8: 139—195 (1974).
- Lowenstein, J. M.: "Citrate and the Conversion of Carbohydrate into Fat," p. 61 in T. W. Goodwin (ed.), *Metabolic Roles of Citrate*, Academic, New York, 1968. An excellent and clearly organized review.
- Lynen, F.: "The Role of Biotin-Dependent Carboxylations in Biosynthetic Reactions," *Biochem. J.*, 102: 381—400 (1967). Includes discussion of the yeast fatty-acid synthetase complex.
- Milunsky, A., J. W. Littlefield, J. N. Kanfer, E. H. Kolodny, V. E. Shih, and L. Atkins: "Prenatal Genetic Diagnosis (First of Three Parts)," *N. Engl. J. Med.*, 283: 1370—1381 (1970).
- Muscio, F., J. P. Carlson, L. Kuehl, and H. C. Rilling: "Presqualene Pyrophosphate: A Normal Intermediate in Squalene Biosynthesis," *J. Biol. Chem.*, 249: 3746—3749 (1974).
- Oesterhelt, D., H. Bauer, and F. Lynen: "Crystallization of a Multienzyme Complex: Fatty Acid Synthetase from Yeast," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 63: 1377—1382 (1969).
- Siperstein, M. D.: "Regulation of Cholesterol Biosynthesis in Normal and Malignant Tissues," *Curr. Top. Cell. Regul.*, 2: 65—100 (1970).
- Stoffel, W.: "Sphingolipids," *Ann. Rev. Biochem.*, 40: 57—82 (1971). A comprehensive review of the subject.
- Volpe, J. J., and P. R. Vagelos: "Saturated Fatty Acid Biosynthesis and Its Regulation," *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 21—60 (1973).
- Wlodawer, P., and B. Samuelsson: "On the Organization and Mechanism of Prostaglandin Synthetase," *J. Biol. Chem.*, 248: 5673—5678 (1973).

习题

- 写出一个由乙酰 CoA、NADPH 和 ATP 开始的生物合成硬脂酸的平衡方程式。
- 写出一个由丙酮酸、NADPH 和 ATP 开始的生物合成棕榈油酸的平衡方程式。
- 写出一个在微粒体内发生的由月桂酸和 NADPH 形成硬脂酸的平衡方程式。
- 写出一个在需氧肝细胞中由葡萄糖开始生物合成三棕榈酸甘油酯的平衡方程式。要包括 ATP 系统的变化。
- 在由棕榈酸，葡萄糖，和丝氨酸开始的合成一分子二棕榈酰磷脂酰丝氨酸的过程中，需要多少高能磷酸键？
- 由棕榈酸、丝氨酸、甘油和蛋氨酸开始生物合成一分子二棕榈酰磷脂酰胆碱的过程中，需要多少高能磷酸键？（参看第二十五章）
- 写出一个由游离乙酸合成胆固醇的平衡方程式。每形成一个分子胆固醇需要多少高能磷酸键？
- 试对比大白鼠以糖原形式或以三棕榈酰基甘油的棕榈酰基形式储存吃进的 D-葡萄糖的碳原子时，每一个碳原子所需要的高能磷酸键的数目。

[苏 轩译 姚开泰校]

第二十五章 氨基酸和某些衍生物的生物合成； 无机氮的代谢

主要因为氨基酸是蛋白质的前身物，所以氨基酸在所有各种有机体的代谢中是十分重要的，然而，有机体在其合成氨基酸的能力以及在其为这一目的所利用的氮的形式方面，各不相同。脊椎动物不能合成所有的一般氨基酸，例如，蛋白质合成所需要作为基本单位的20种氨基酸中，人和大白鼠仅能合成10种。其余必需的，营养上不可缺乏的氨基酸必须由植物或细菌供给。高等动物在合成非必需氨基酸时，可以利用铵离子作为氮的来源，但它们不能利用亚硝酸盐、硝酸盐或者大气氮。高等植物的能力比较多方面些，它们能利用氨、亚硝酸盐或硝酸盐作为氮源，并能制造蛋白质合成所需的全部氨基酸。豆科植物的根瘤中有着共生的固氮细菌，甚至能利用大气氮转变为氨。

各种微生物合成氨基酸的能力差别很大。例如必须为肠系膜状明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*) 供给 16 种氨基酸，否则就不能生长。此类细菌只有在富于氨基酸的环境中才能生存，这些氨基酸是事先从正在腐败的生物物质形成的。其他如大肠杆菌一类的细菌，则能从氨开始来制造它们的全部氨基酸。虽然大部分微生物需要还原形式的氮（如氨），但许多细菌和真菌像高等植物那样能利用亚硝酸盐和硝酸盐。

20 种不同的氨基酸通过 20 种不同的多酶序列合成，其中有些过程极端复杂。与大多数生物合成的途径一样，氨基酸合成途径大部分和它们降解时所采取的途径不相同。氨基酸合成和降解途径的复杂性初看起来是令人不敢想像的，然而代谢的这一领域里涉及到一些极有趣的生物化学关系。氨基酸的合成和降解途径常常会有导致各种特殊生物分子生成的支路、或途径的延伸。此外，氨基酸本身也可作为其它具有特殊功用的生物分子的前身物。

在无生命的环境中，生物学上能利用的氮的形式十分稀少。因此，大多数活有机体在它们代谢中倾向于经济地利用还原形式的氮。氨基或分解代谢过程中产生的氮的中间产物常常保存起来再用于氨基酸的合成。我们也将看到，通过调节酶类的作用，大多数氨基酸的生物合成受到反馈控制。此外，催化这些氨基酸生成的酶类的生物合成也受到调节，倘若细胞有充足的外源性氨基酸的供应，这些酶类的合成常常被抑制。

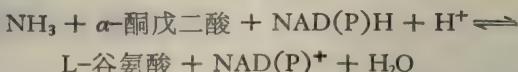
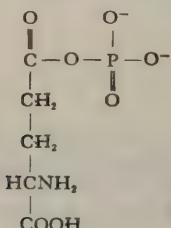
本章一系列代谢图将展示出各种氨基酸的生物合成途径。在这些图中将采用前面常规方法以标明主要的调节酶类，和它们的抑制性或兴奋性别位调节剂的特殊作用。

非必需氨基酸的生物合成

非必需的或不必要的氨基酸，就是人和大白鼠这两种对氨基酸的需要完全相同的有机体所能合成的氨基酸。因为大多数有机体能够用其他的前身物合成这类氨基酸，所以首先考虑它们是恰当的。此外，这类氨基酸还有相当短的生物合成途径的特点。

谷氨酸、谷氨酰胺和脯氨酸

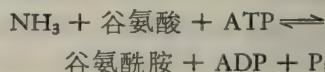
大多数有机体中，在 L-谷氨酸脱氢酶的作用下 α -酮戊二酸的氨基化作用是形成谷氨酸的主要途径。谷氨酸脱氢酶在动物组织中，能够利用 NAD 或 NADP。在植物中此酶常常只能利用 NADP。其反应为：



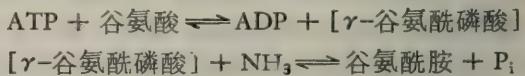
因为在许多种属中，此反应是直接从氨形成 α -氨基的主要途径，所以在所有的氨基酸的生物合成中此反应是具有根本重要性的。谷氨酸的氨基随后转移给各种 α -酮酸，并生成相应的氨基酸。

图 25-1 γ -谷氨酰磷酸
谷氨酸脱氢酶是一个调节酶。从牛肝中分离得到的酶其分子量约为 320,000，含有 6 个相同的亚基，每个亚基有二个与辅酶结合的点。此酶本身反复连合生成长线聚合体。这些聚合体通过 NADH 或 GTP 的作用，分解成单体。谷氨酸脱氢酶有许多别构效应物，而此效应物的复杂效应取决于酶， NAD^+ 或 NADH 和基质谷氨酸等的浓度。ADP 或是这个反应的刺激物或是抑制物，主要决定于 NAD^+ 的浓度，而 GTP 对这反应则是一个强的抑制物。 Zn^{2+} 、甲状腺激素-甲状腺素和合成的雌激素(女性性激素)己烯雌酚也可以影响反应速率。

谷氨酸在谷氨酰胺合成酶的作用下形成谷氨酰胺，已在别处讨论。



这个反应颇为复杂，涉及两个或多个中间步骤。已证明 γ -谷氨酰磷酸(图 25-1)是以与酶结合的中间产物而起作用的。



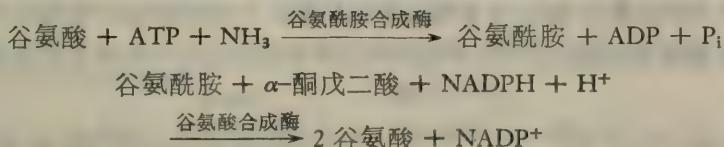
谷氨酰胺合成酶的专一性、动力学，和作用机制等，A. Meister 和他的同事们已作了极详细的研究。底物专一性的广泛研究已经使我们有可能画出酶的活性部位图。现已证明，活性部位与谷氨酸分子延伸的构型在三个部位上结合，即在两个羧基上和一个氨基上。奇怪的是酶既能接受谷氨酸的 D 型，也能接受其 L-型立体异构体作为底物。

谷氨酰胺合成酶是一个结构上复杂的酶，分子量为 350,000—600,000，随生物种属不

图 25-2 脯氨酸的生物合成，所有五个碳原子来自于谷氨酸，终末产物是第一个反应步骤的别构抑制物

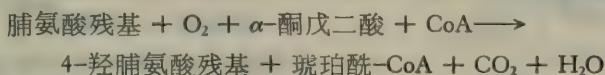
同而异。在某些细胞里它是一个调节酶,但此酶的别构特性随细胞类型不同而差别很大,将在本章的后面讨论。

谷氨酰胺合成酶也参入从游离氨转变成氨基酸 α -氨基的反应,因为此酶可以协助由黄素酶——谷氨酸合成酶所催化的把游离的氨转变为谷氨酸 α -氨基的反应。



脯氨酸是通过图 25-2 所示途径从谷氨酸合成的。推想谷氨酸的 γ -羧基是通过与糖酵解的逆过程中的 3-磷酸甘油酸还原成甘油醛 3-磷酸相类似的反应,首先在 ATP 的作用下磷酸化,再通过 NADH 或 NADPH 还原。这个顺序的终末产物,L-脯氨酸,是第一步反应的别构抑制物。

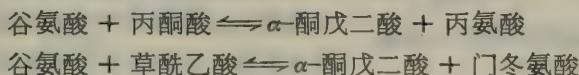
胶原蛋白和少数的其他纤维蛋白中存在的 4-羟脯氨酸残基是通过脯氨酸 4-单加氧酶的作用从某些与蛋白质结合的脯氨酸形成的,4-单加氧酶仅仅作用于已结合到多肽链中的脯氨酸残基。这个混合功能加氧酶利用 α -酮戊二酸作为辅还原剂。



此反应需要 Fe^{3+} 和抗坏血酸作为辅助因子。

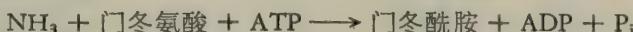
丙氨酸、门冬氨酸和门冬酰胺

在大多数有机体中,通过谷氨酸与丙酮酸及草酰乙酸的转氨基作用形成丙氨酸和门冬氨酸。

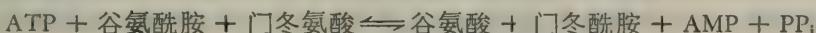


以谷氨酸作为氨基供给体的转氨酶的性质将在别处叙述。在某些植物中,可以通过类似于谷氨酸脱氢酶的反应与氨进行还原氨化作用而形成丙氨酸和门冬氨酸。

门冬氨酸是门冬酰胺的直接前身物,门冬酰胺合成酶催化的这个反应的机制与谷氨酰胺合成酶相类似:

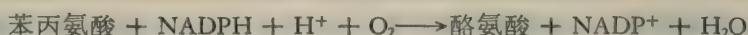


在某些有机体中可以有另外的途径,通过门冬酰胺合成酶(水解谷氨酰胺的)的作用,把谷氨酰胺的酰胺基转移至门冬氨酸的 β -羧基上而形成门冬酰胺。



酪氨酸

酪氨酸是由必需氨基酸苯丙氨酸通过苯丙氨酸 4-单加氧酶所催化的羟化反应形成的。前面已知此酶参加苯丙氨酸的降解。这个混合功能的加氧酶需要 NADPH 作为辅还原剂,二氢生物蝶呤作为辅助因子,如别处所概述那样。总反应为:



苯丙氨酸的生物合成将在下面讨论。

丝氨酸和甘氨酸

作为甘氨酸和半胱氨酸的前身物 L-丝氨酸是通过图 25-3 所显示的途径从它的主要来源 3-磷酸甘油酸形成的。糖酵解的中间产物 3-磷酸 D-甘油酸通过磷酸甘油酸脱氢酶的作用消耗了 NAD⁺ 氧化生成 3-磷酸羟基丙酮酸。3-磷酸羟基丙酮酸经谷氨酸的转氨基作用生成 3-磷酸丝氨酸，后者在磷酸丝氨酸磷酸酶的作用下水解形成游离的 L-丝氨酸。

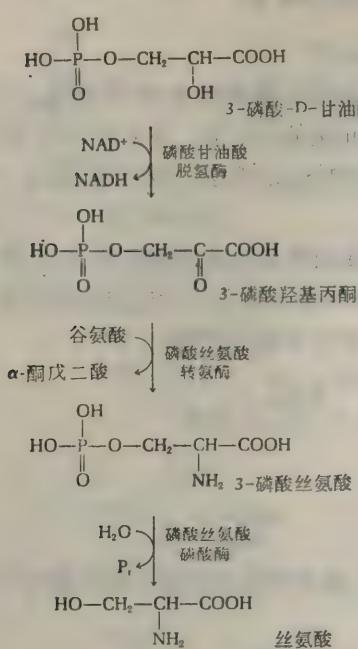
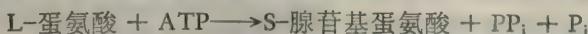


图 25-3 从 3-磷酸甘油醛生物合成 L-丝氨酸

因此此反应是可逆的，所以也是合成丝氨酸的一条途径。磷酸吡哆醛是酶的辅基。叶酸辅酶的结构和各种功能将在别处叙述。

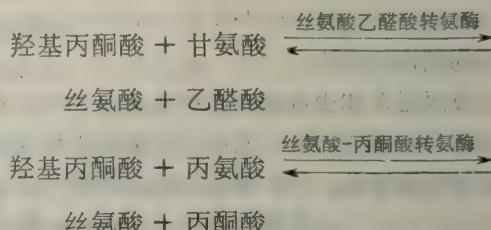
半胱氨酸

半胱氨酸不是一个必需氨基酸，但在哺乳动物中它来自于必需氨基酸蛋氨酸和非必需氨基酸丝氨酸。在这个途径中，蛋氨酸的硫原子取代了丝氨酸羟基中的氧原子，于是丝氨酸转变为半胱氨酸。这个过程常常称为转硫作用。这个序列的第一步是蛋氨酸先失去了硫原子上的甲基变成同型半胱氨酸。此转变可分为三个或更多个步骤进行，第一步需要 ATP 使蛋氨酸在由 G. Cantoni 和他的同事们所提出的一个十分少见的反应中转变成活化形式——S-腺苷蛋氨酸，在此反应中 ATP 的腺苷基转移至蛋氨酸上：

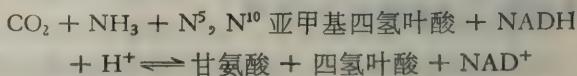


S-腺苷蛋氨酸是一个重要的生物甲基化剂。附着在有高能特性的锍键上的甲基，当有适当的酶存在时，可以授予许多不同的甲基受体中的任何一个，剩下 S-腺苷同型半

形成丝氨酸的另一途径是，从 D-甘油酸形成的羟基丙酮酸与甘氨酸或丙氨酸进行转氨作用分别生成丝氨酸和乙醛酸或丙酮酸：



甘氨酸可由二氧化碳和氨在甘氨酸合酶的作用下形成，此酶是一个需要磷酸吡哆醛的酶，它能催化可逆反应：



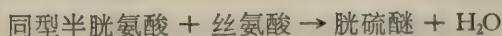
在脊椎动物的肝脏中这似乎是主要途径。L-丝氨酸在丝氨酸羟甲基转移酶的作用下也可以形成甘氨酸，此酶能催化丝氨酸的 β -碳原子转移给四氢叶酸生成 $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -甲烯基四氢叶酸：



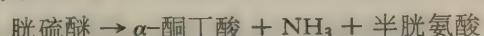
• 606 •

胱氨酸成为去甲基产物。然后 S-腺苷同型半胱氨酸被水解生成游离的同型半胱氨酸。

半胱氨酸合成的第二个阶段是，同型半胱氨酸在胱硫醚 β -合酶的催化下与丝氨酸反应生成胱硫醚：



最后一个阶段是，胱硫醚在一个需要毗哆醛磷酸的胱硫醚 γ -裂解酶的催化下裂解生成游离的半胱氨酸，与 α -酮丁酸和 NH_3 等其他产物：



半胱氨酸是胱硫醚 γ -裂解酶的别构抑制物。合成半胱氨酸的总方程式为：

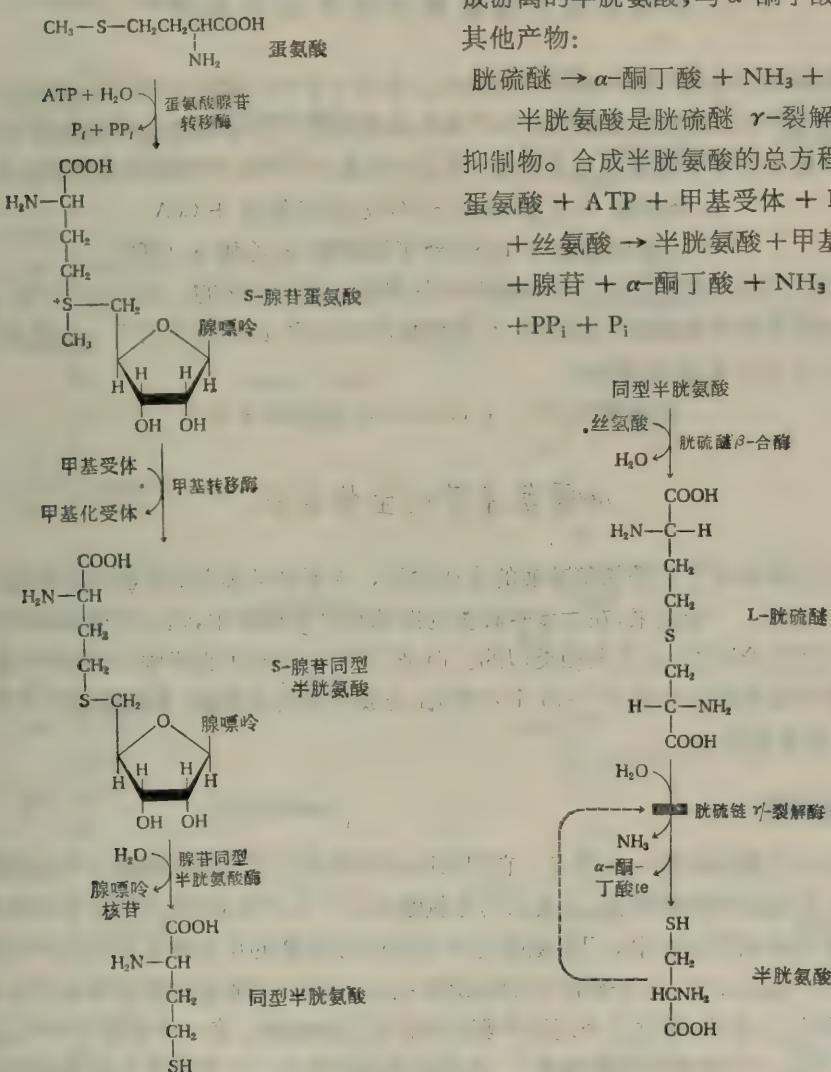
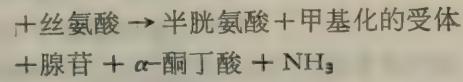
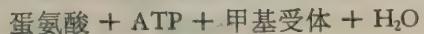


图 25-4 从蛋氨酸合成半胱氨酸的途径

在这些反应中的关键性中间产物胱硫醚有二个不对称的中心，于是就有四个立体异构形式、L、D、L-别和D-别，而仅仅只有L-形的有生物活性。在哺乳动物中胱硫醚的唯一功能是作为转移蛋氨酸的硫原子形成半胱氨酸的中间产物。在人的脑组织中胱硫醚的含量较高，但是在较低级的脊椎动物中含量却较低。当人先天性的缺乏胱硫醚合酶将会出现智力缺陷；在这类遗传性紊乱的病人，不用的同型半胱氨酸以同型胱氨酸的形式在尿中排出称为同型胱氨酸尿症。在另外一种缺乏胱硫醚 γ -裂解酶的遗传疾病的病人的尿

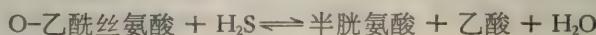
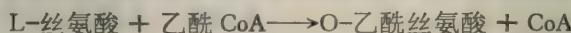
中有胱硫醚排出(胱硫醚尿症)。

在某些微生物中，半胱氨酸是从丝氨酸通过由一个需要吡哆醛磷酸的酶半胱氨酸合酶所催化的不同途径形成的。

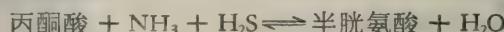


半胱氨酸和蛋氨酸的有机硫的来源

半胱氨酸和蛋氨酸的有机硫原子生物学上来源于各种不同的无机形式，如 SO_4^{2-} 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 H_2S 和甚至元素硫，有些细菌能将硫原子氧化成硫酸盐。许多微生物和植物能导致硫酸盐和硫代硫酸盐的酶促还原而生成 H_2S ，然后 H_2S 通过下列反应转变成半胱氨酸的巯基。



这些反应是分别由丝氨酸乙酰基转移酶和半胱氨酸合酶所催化的。还有利用 H_2S 的另一类反应是由需要吡哆醛磷酸的胱硫醚 γ -裂解酶所催化的，此酶既作用于[或形成]胱硫醚，也作用于[或形成]半胱氨酸。



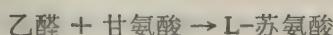
必需氨基酸的生物合成

人和大白鼠营养上必需的氨基酸的合成途径，主要是从细菌的生物化学和遗传学研究中推论出来的。一般说来，在大多数种类的细菌和高等植物中，这一类氨基酸的生物合成途径即使不完全相同，也是很相类似的。但是，有时在某些个别步骤上，也有种属差异。生物合成必需氨基酸的途径(5—15个步骤)比合成非必需氨基酸(大多数少于5个步骤)要长些，也更复杂些。

苏氨酸和蛋氨酸

这两种必需氨基酸有一共同点：它们的四碳骨架来自于同型丝氨酸，即丝氨酸的四碳类似物。同型丝氨酸的碳链，又是从门冬氨酸通过一系列反应(图25-5)衍生出来，这些反应不发生在哺乳动物中。门冬氨酸的 β -羧基还原成醛的反应途径是经过一种酰基磷酸作为中间产物而发生，与3-磷酸甘油酰磷酸由甘油醛3-磷酸脱氢酶所催化还原成甘油醛3-磷酸相似。然后，通过二个还原步骤形成的同型丝氨酸，在一个需要ATP的反应中(图25-5)磷酸化成同型丝氨酸磷酸。同型丝氨酸磷酸在一种需要吡哆醛磷酸的酶即苏氨酸合酶(图25-6)的催化下转变成苏氨酸。据信在有几个步骤的复杂反应中，底物的 α -氨基是以Schiff氏碱的形式与酶的吡哆醛磷酸的醛基相结合，这个络合物中的 α -氢原子是很不稳定的(图25-6)。这个序列的最终产物苏氨酸是门冬氨酸激酶的三个同工酶之一的抑制性调节剂(图25-5)。

合成苏氨酸的另一条途径是由一个需要吡哆醛磷酸的酶即丝氨酸羟甲基转移酶所提供的。此酶催化下列反应



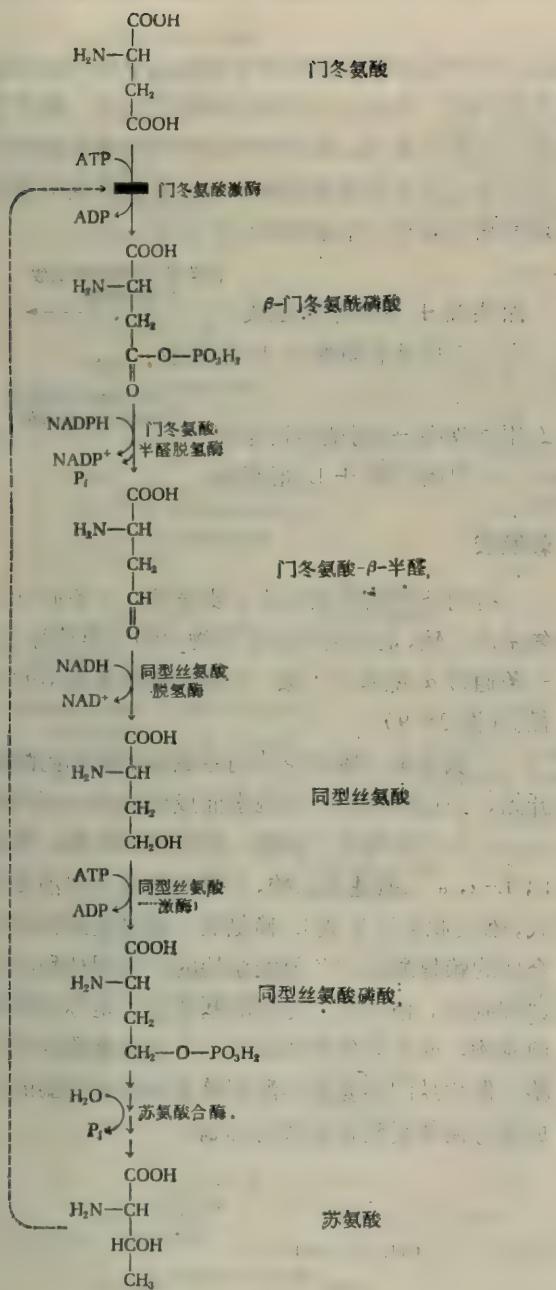


图 25-5 从门冬氨酸合成苏氨酸

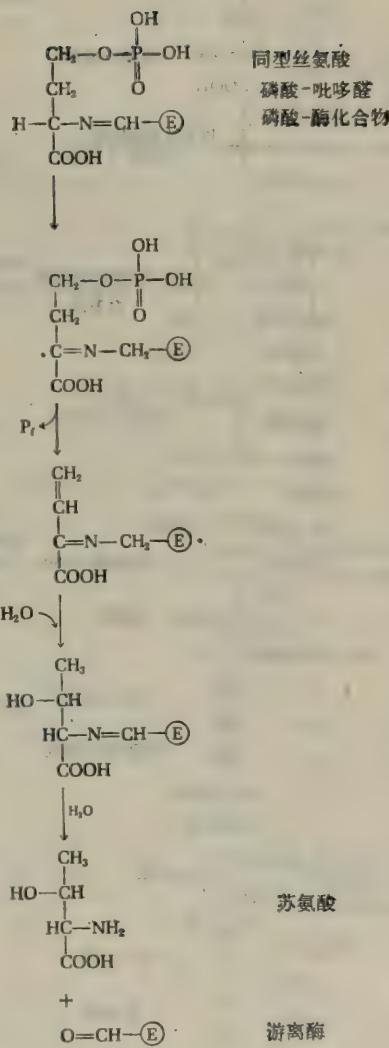


图 25-6 苏氨酸合酶反应

同型丝氨酸转变成蛋氨酸(图 25-7)是从琥珀酰 CoA 的琥珀酰基转移到同型丝氨酸上酶促形成 O-琥珀酰同型丝氨酸开始的。在下一个反应中,半胱氨酸从 O-琥珀酰同型丝氨酸置换了琥珀酸,而形成胱硫醚。后者在胱硫醚 β -裂解酶的作用下,依次水解生成同型半胱氨酸、丙酮酸和 NH₃。[回顾胱硫醚在胱硫醚 γ -裂解酶的作用下,在硫原子的另一侧也能够裂解生成半胱氨酸]。因为同型半胱氨酸能够甲基化形成蛋氨酸,很明显胱硫

酰可作为植物和细菌中把半胱氨酸转变为蛋氨酸以及在哺乳动物中把蛋氨酸转变为半胱氨酸的中间产物。

在大肠杆菌中，同型半胱氨酸通过从 N^5 -甲基四氢叶酸转移甲基使之甲基化成为蛋氨酸。这大概是 N^5 -甲基四氢叶酸提供甲基的唯一反应。在某些特殊的情况下，需要甲基钴胺素——一种甲基碳原子直接与钴结合的维生素 B_{12} 的形式——作为转移甲基的中

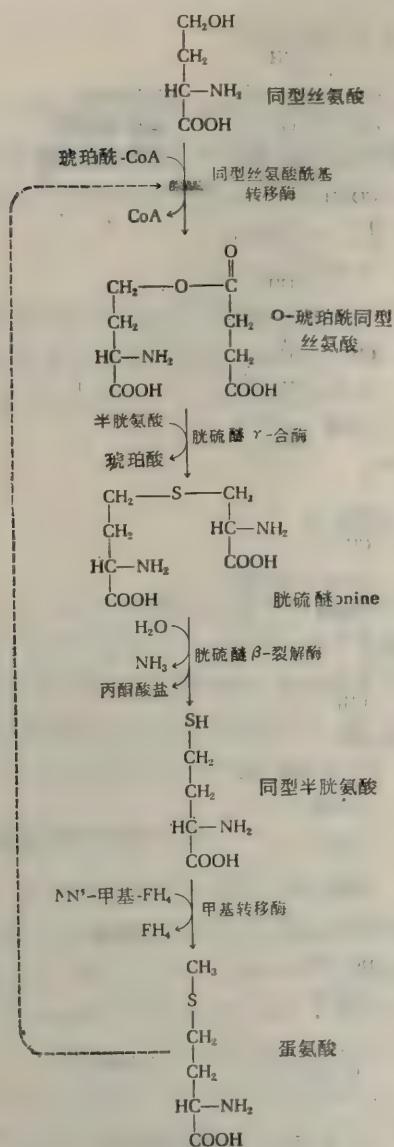
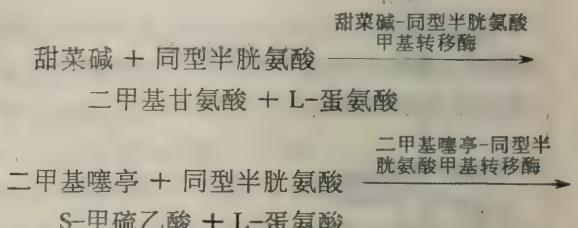


图 25-7 同型丝氨酸转变成蛋氨酸。蛋氨酸的硫原子来自半胱氨酸，而碳链来自同型丝氨酸。

间产物。其它为蛋氨酸生物合成直接提供甲基的还有甜菜碱和二甲基噻亭(图 25-8)：



赖氨酸

有两条合成赖氨酸的主要途径，一条通过二氨基庚二酸，是细菌和高等植物中的主要途径。另一条通过 α -氨基己二酸，它是大多数真菌中的途径。(图 25-9)

二氨基庚二酸途径从门冬氨酸半醛和丙酮酸开始，经过醇醛缩合和脱水而成环状的中间产物——2,3-二氢吡啶二羧酸。在较后的阶段，形成 L, L- α , ϵ 二氨基庚二酸，后者转变成为内消旋形式，然后脱羧以生成 L-赖氨酸。通过此途径生物合成的赖氨酸是门冬氨酸激酶的一种同功酶的反馈抑制物。请回忆门冬氨酸半醛磷酸也是苏氨酸的前身物，而且苏氨酸能抑制门冬氨酸激酶的同功酶。催化从门冬氨酸半醛到赖氨酸的全套酶的合成都协调地受到赖氨酸的抑制。

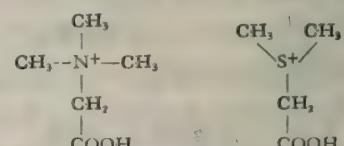


图 25-8 蛋氨酸生物合成的其它甲基供给体

氨基己二酸途径从乙酰 CoA 和 α -酮戊二酸开始，在与从柠檬酸到 α -酮戊二酸的三羧酸循环反应相类似的反应中，经过同型异柠檬酸到 α -酮基己二酸。 α -酮基己二酸氨基化成 α -氨基己二酸，最后变成 L-赖氨酸。(图 25-9)

二氨基庚二酸的途径(细菌)

门冬氨酸

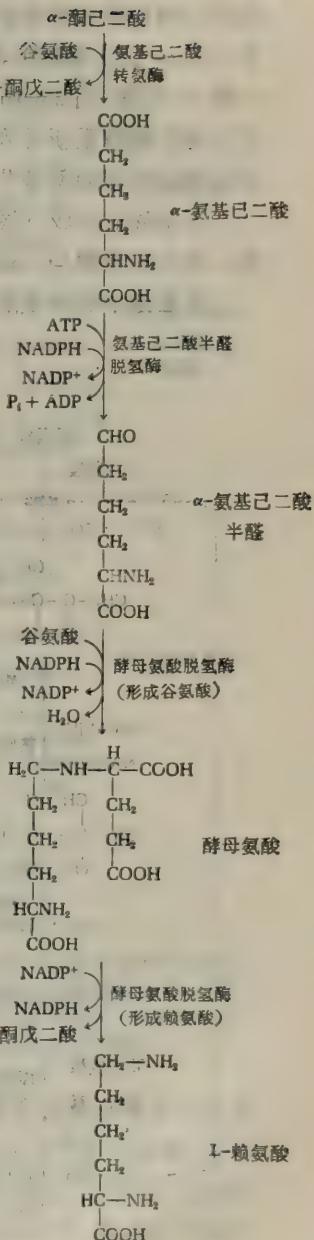
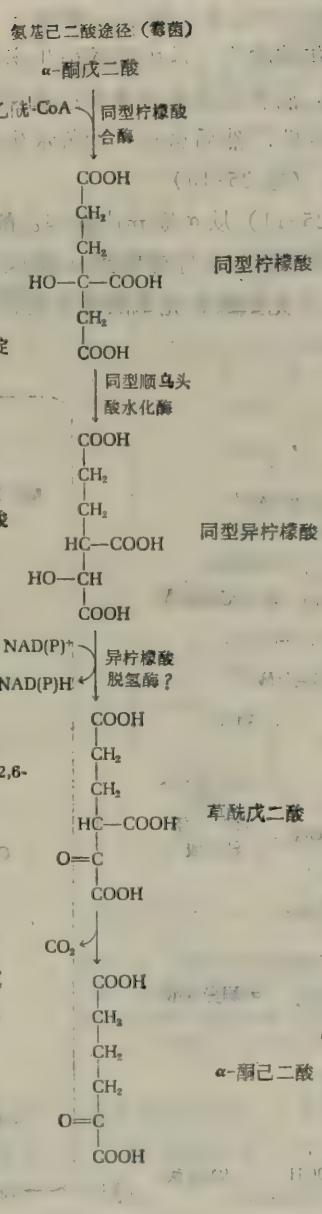
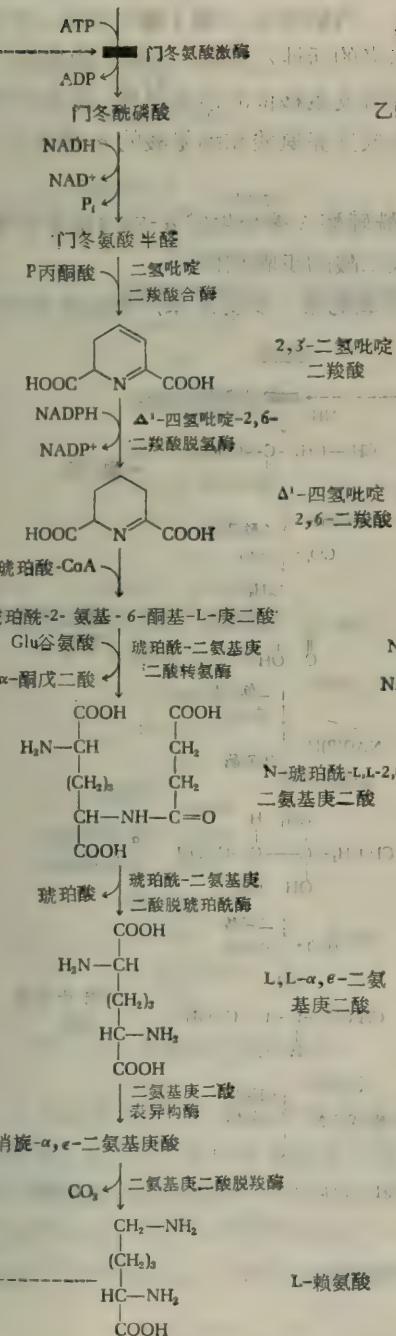


图 25-9 赖氨酸合成的两条途径

缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸

含有分支脂肪族 R 基的这三个氨基酸是通过类似的途径合成的。由同一组酶所催化的到达缬氨酸和异亮氨酸的途径是分别由 α -酮酸——丙酮酸和 α -酮丁酸开始，对它们加上以 α -羟乙基硫胺素焦磷酸形式从丙酮酸衍生出来的活性乙醛基。这些产物是相应的 α -酮- α -羟酸(图 25-10)。后者经受有甲基或乙基同时发生移位的还原作用，此作用在形式上与乙酰辅酶 A 缩合相似。然后这些产物脱水生成异亮氨酸和缬氨酸的 α -酮类似物，后者通过转氨酶氨基化。(图 25-10)

亮氨酸的形成(图 25-11)从 α -酮异戊酸与乙酰辅酶 A 缩合生成 α -异丙基苹果酸开始。随后的步骤与三羧酸循环中从柠檬酸到 α -酮戊二酸的步骤相似。

在细菌中的缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸的生物合成的第一步受终末产物的反馈抑制。

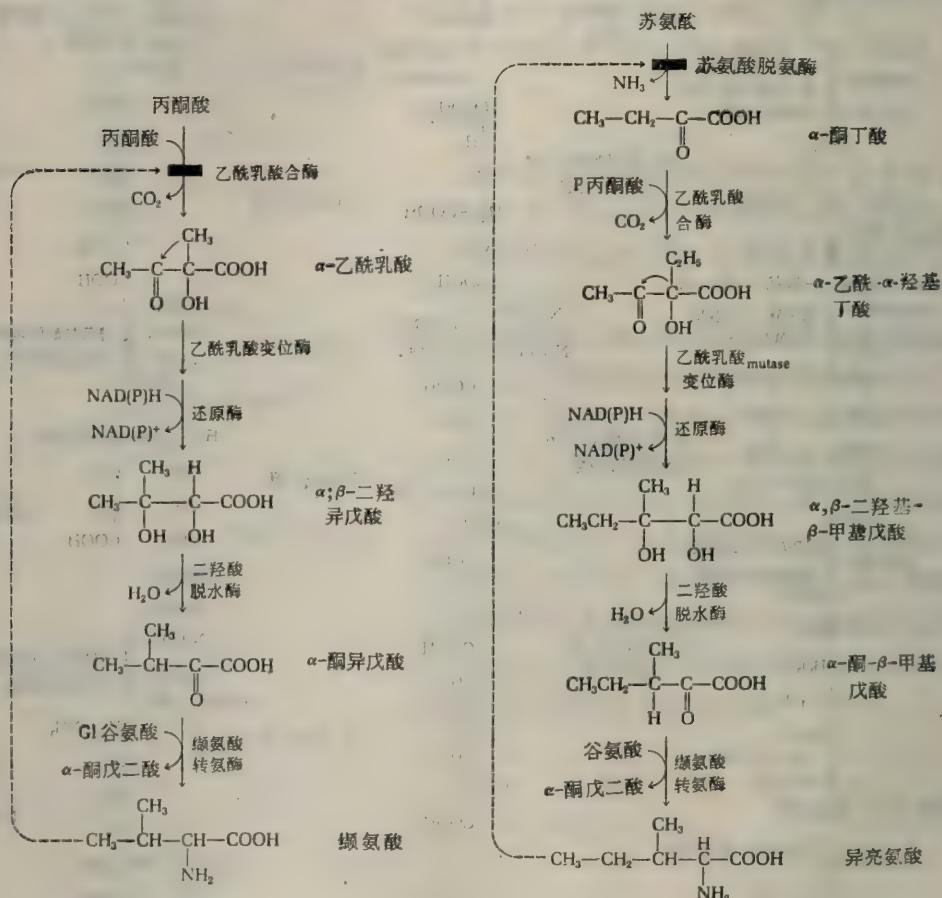


图 25-10 合成缬氨酸和异亮氨酸的途径

鸟氨酸和精氨酸

在许多种生物中，鸟氨酸是精氨酸的前身物。虽然鸟氨酸能在 Krebs 尿素循环进行中被哺乳动物转变为精氨酸，但后者在精氨酸酶的作用下，迅速分解而形成尿素和鸟氨酸，

故可用于合成蛋白质的鸟氨酸的量是不足的。因此，精氨酸是哺乳动物中一个必需的氨基酸。在细菌和植物中，鸟氨酸是通过二个一般的途径从谷氨酸合成的；其主要途径显示于图 25-12。

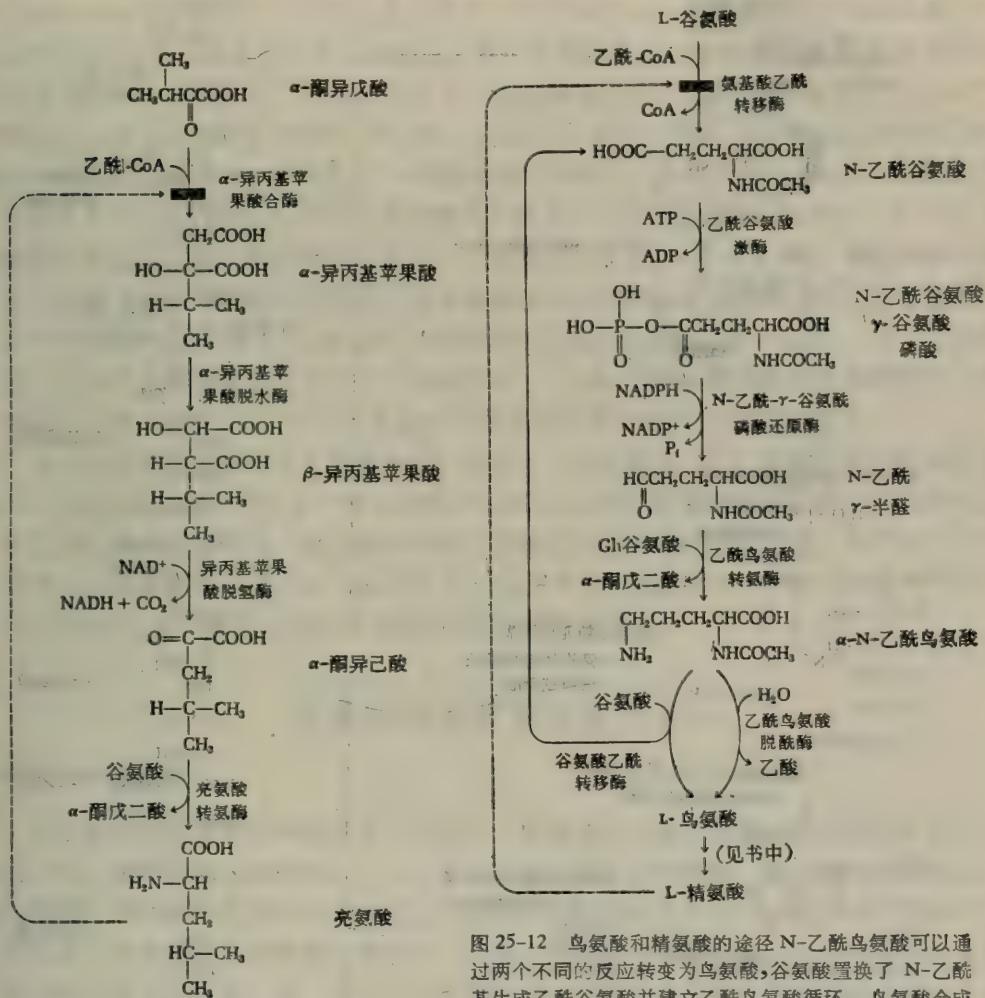
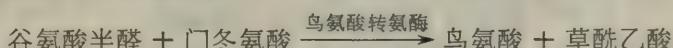


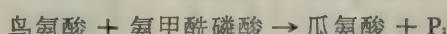
图 25-11 亮氨酸的生物合成途径

图 25-12 鸟氨酸和精氨酸的途径 N-乙酰鸟氨酸可以通过两个不同的反应转变为鸟氨酸，谷氨酸置换了 N-乙酰基生成乙酰谷氨酸并建立乙酰鸟氨酸循环。鸟氨酸合成的第一阶段受终末产物精氨酸的抑制。

这个途径的最后一步随种类不同而异。在大肠杆菌中，N-乙酰鸟氨酸水解产生鸟氨酸和游离乙酸；而在其他微生物和植物中，N-乙酰鸟氨酸将它的乙酰基交给谷氨酸，生成游离的鸟氨酸而最终成为 N-乙酰谷氨酸 γ-半醛。N-乙酰基看来能防止谷氨酸半醛发生自发的环化。这个反应序列组成 N-乙酰鸟氨酸循环。在某些有机体中，鸟氨酸是通过转氨基作用把氨基从不同的氨基酸转到 L-谷氨酸 γ-半醛而生成的。



通过这些途径形成的鸟氨酸，沿尿素循环反应转变成精氨酸，这在 21 章中叙述得更详细：



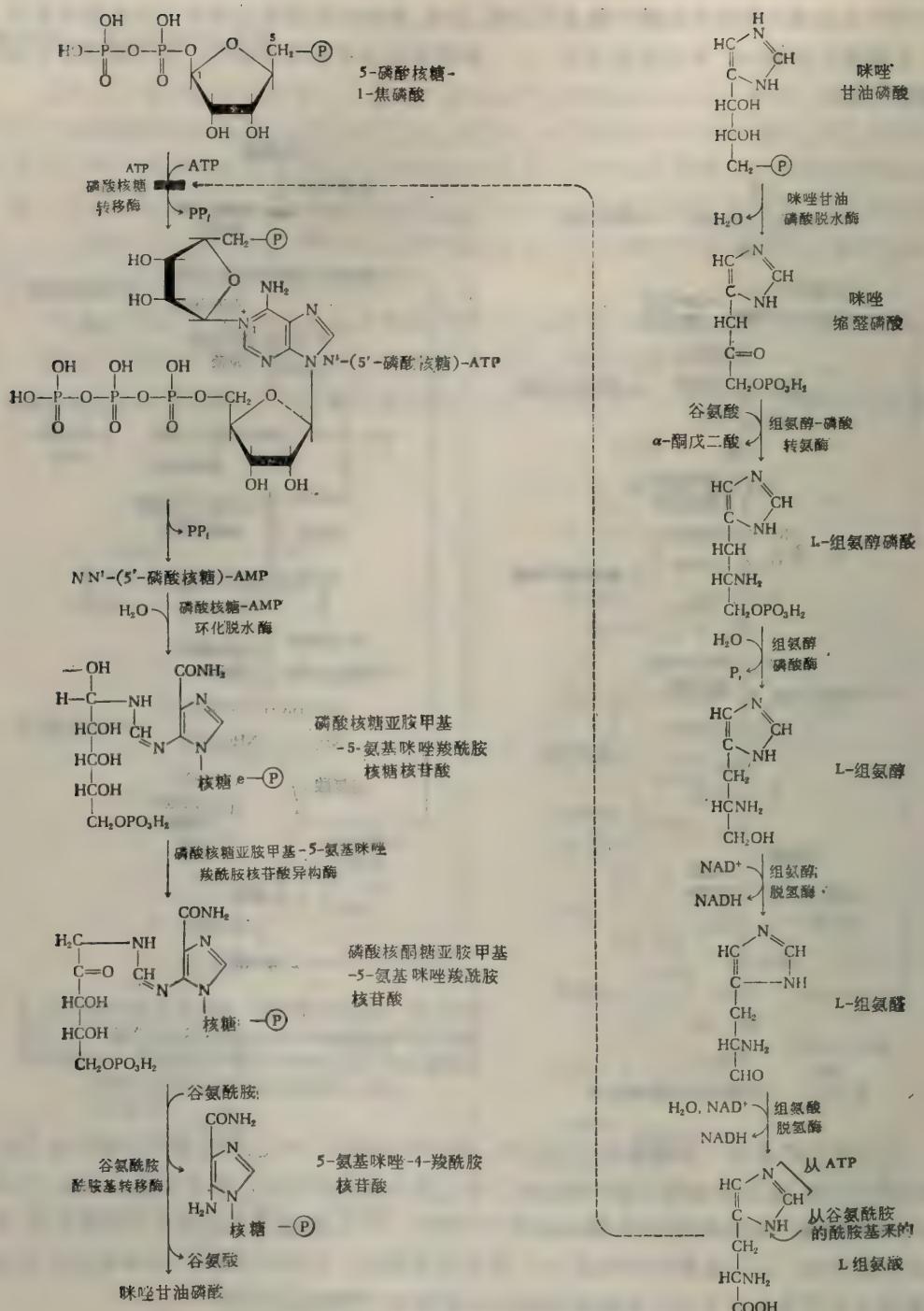
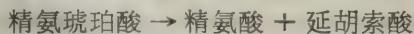


图 25-13 组氨酸的生物合成②提供磷酸基



因为许多细菌缺乏精氨酸酶，所以这条途径可得到精氨酸的净合成。

组氨酸

组氨酸生物合成途径这一艰巨的生化问题是通过 B. Ames 等人利用鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌的变种所做的一系列出色的研究才得到解决的。组氨酸形成的途径见图 25-13, 它包括许多最不常见的和复杂的反应。第一步特别新奇, 即 5-磷酸核糖 1-焦磷酸与 ATP 发生这种方式的反应, 以致前者失去了焦磷酸基团, 而 5-磷酸核糖那部分则与 ATP 的嘌呤环上第 1 位氮原子形成 N-糖基键。通过对此反应的追踪, 已经发现三碳侧链和组氨酸咪唑环上的两个碳原子都是从 5-磷酸核糖部分来的。咪唑环的—N=C—结构之一, 来自 ATP 的腺嘌呤, 而环中的其他氮原子则是在 ATP 的腺嘌呤环经过一个不寻常的酶促分解后从谷氨酰胺的酰胺氮来的。正如我们将在第 26 章中看到的, 腺嘌呤环的其余碎片事实上保存了可以作为嘌呤的前身物再利用; 很明显, 在组氨酸生物合成中没有什么副产物是废弃的。事实上, 组氨酸和嘌呤环的生物合成是联系在一起的。另一个值得注意之点是组氨酸的羧基显然在一个酶的作用下, 由相应的 α -氨基醇即组氨醇经过一种二步氧化而形成, 而几乎所有其他氨基酸的羧基却都来自相应 α -酮酸的羧基。

生成组氨酸的一系列反应的第一步, 是由一个别构酶即 ATP 磷酸核糖基转移酶催化的, 该酶受反应序列的终末产物组氨酸所抑制, 而且整个酶系受协调阻抑, 即当培养基中有过剩的组氨酸存在时, 组氨酸形成的全套酶类的生物合成受到阻抑。我们将会在后面知道从对组氨酸操纵子 (his operon), 即为这组 9 个酶编码的 DNA 节段的遗传学研究中, 已经获得了关于酶系生物合成调节的十分重要的信息。

芳香族氨基酸的生物合成

苯丙氨酸和色氨酸

由纯粹的脂肪族前身物形成其芳香环这一机制是这些氨基酸的生物合成的最值得注意的方面。这些反应的途径(图 25-4), 是从其生长需要苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的大肠杆菌和产气杆菌的营养缺陷型突变体上所做的实验推断出来的。B. D. Davis 曾做过重要的观察, 发现某些高等植物内富含的一种氢化芳香酸—莽草酸可以代替芳香族氨基酸维持这些突变体的生长。进一步研究与莽草酸相关的化合物以测定其维持这些突变体生长的能力, 以及 D. B. Sprinson 所作的同位素实验, 终于揭示了芳香族氨基酸生物合成的途径。在以莽草酸作为一种关键性中间产物的这条途径中, 所运用的结构芳香化机制, 因为它远远超过了芳香族氨基酸的形成具有最广泛的生物学意义。例如正像许多其他的芳香族生物分子如泛醌(辅酶 Q)和质体醌素那样, 植物组织中大量的木质素也是通过莽草酸合成的。木质素是一种多聚芳香族物质, 它构成植物组织中木质的绝大部分。

在生成莽草酸的途径中, 一种磷酸四碳糖——D-赤藓糖 4-磷酸——与磷酸烯醇丙酮酸起反应, 生成磷酸化的七碳酮糖酸; 它再环化成 5-脱氢奎尼酸, 而具有一个六碳脂肪族环。这个中间产物然后再转化为莽草酸, 然后经过磷酸化的中间产物生成分支酸[希腊文 “fork”], 在这里有一个重要的代谢分支点。一条支路通向邻-氨基苯甲酸, 由此再到色氨酸, 而另一条生成类醌化合物预苯酸, 后者是整个反应序列中的最后一个非芳香族化合物。预苯酸可通过两种方式芳构化: (1) 脱水同时自动脱羧生成苯丙酮酸即苯丙氨酸的

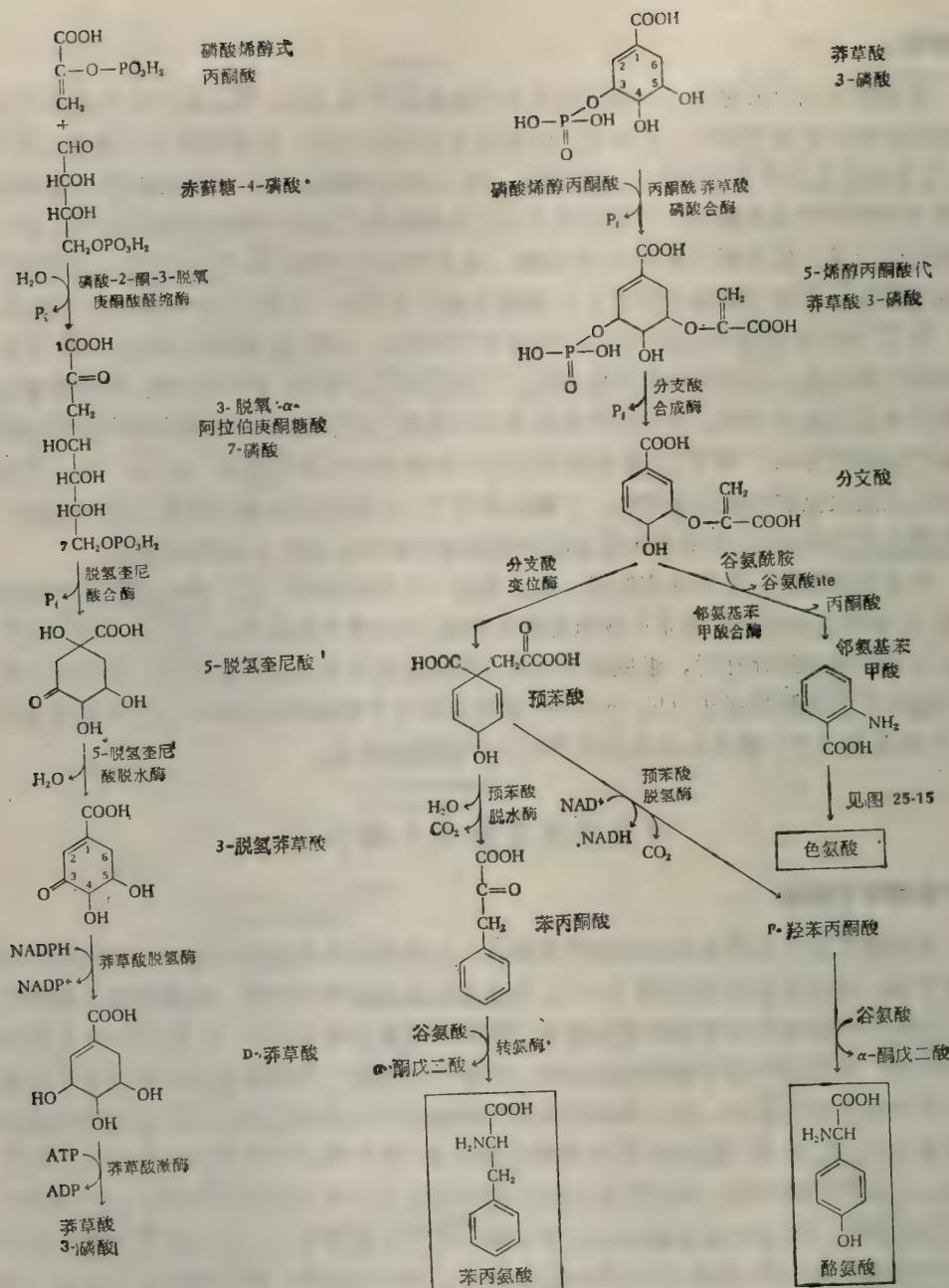
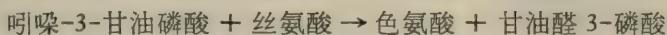


图 25-14 酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸的生物合成途径

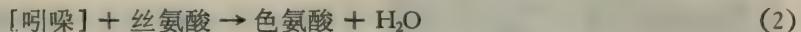
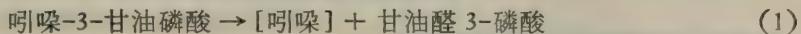
前身物；(2)通过脱氢和脱羧，生成对羟基苯丙酮酸即酪氨酸的前身物。催化这个序列的某些酶还没有充分鉴定。

图 25-15 所示从邻氨基苯甲酸形成色氨酸的详细过程。这序列中的最后步骤由色氨酸合酶催化，此酶已受到相当重视，这不仅是因为它能催化一个重要的反应，而且特别是因为它那具有酶活性的亚基在分子遗传学一条基本原理的实验证明中被用作重要因素。

这个原则就是 DNA 内核苷酸三联体的顺序与其基因产物氨基酸顺序呈现一种同线性。色氨酸合酶是一种需要吡哆醛磷酸的酶，其分子量约为 135,000，已经分离成晶形。它催化下面的总反应：



此反应分两步，中间产物吲哚是和活性部位相结合：



大肠杆菌的酶含有四条多肽链，由能够分离的 2 条 α 链和 2 条 β 链所构成。 α -亚基能够单独催化反应 (1)，但反应速率慢，而两条 β 链联合成为二聚体 β_2 ，能催化反应 (2)，其反应速度也慢。当 α 链和 β 链混合时，两反应的速度均将显著增加。 α 链与 β 链以及它们许多



图 25-15 从邻氨基苯甲酸到色氨酸的详细途径。PRPP 系指磷酸核糖焦磷酸酯。

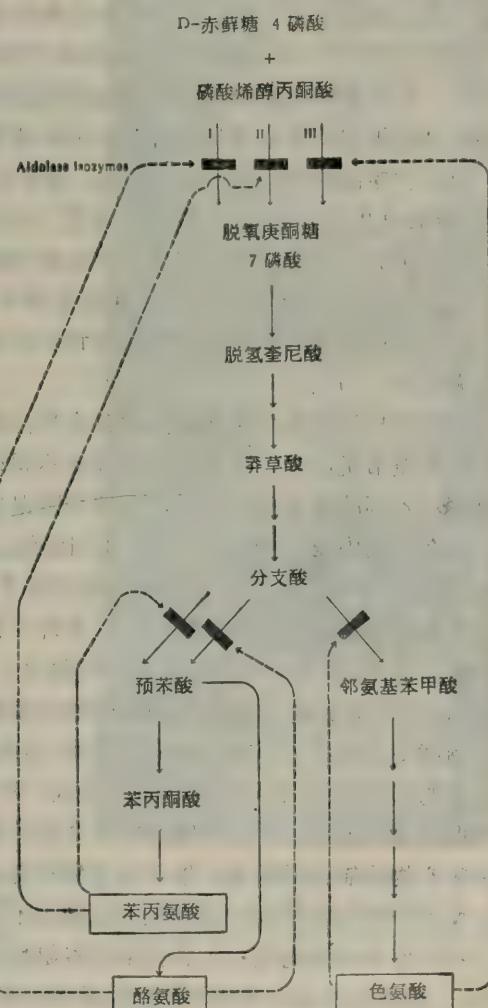


图 25-16 芳香族氨基酸生物合成调节中的反馈控制。第一步是三个氨基酸合成的共同途径，由磷酸-2-酮-3-脱氧庚酸醛缩酶的三个不同的同功酶所催化(图 25-14)，此类酶每个受其相应的专一终末产物抑制。这样假若只需要制造一个或两个芳香族氨基酸时，通过此步骤的代谢流可进行调整，这些终末产物的每一个也能抑制相应的同功酶的形成，在分支酸转变成预苯酸时也包含了两个调节同功酶，每一个对这分支点的终末产物是专一的。

突变体的氨基酸顺序都已经确定了。脉孢菌的色氨酸合酶在某些方面与大肠杆菌的酶不同。

芳香族氨基酸生物合成的别构调节在下面叙述。

氨基酸生物合成的调节

在前面的讨论中已经涉及到调节氨基酸生物合成的两种一般机制：(1) 别构或反馈抑制；(2) 阻遏氨基酸合成途径中一个或数个酶的生物合成，因而降低了它们在细胞中的浓度。由终末产物对生物合成序列中的第一个反应的反馈抑制能产生对生物合成的精细调节，因为它能每一秒一秒地调节氨基酸的生物合成速率，达到生物合成的最终产物的稳态水平。在细菌中氨基酸生物合成的别构控制特别显著，因为它们保存氮源的基本需要。在哺乳动物组织中氨基酸生物合成的别构调节看来并不十分显著。

第二种控制机制即酶合成的阻遏，通常说它能产生“粗”控制。这种控制是经过改变DNA转录速度或信使RNA的翻译速度，来改变酶的合成速率的。酶合成的阻遏与解阻遏对变化了的代谢条件的反应来说要比调节酶的反馈抑制慢。酶合成的阻遏有另外的目的：即通过阻止不用的酶的合成以使氨基酸和能的利用达到最大程度的经济。因为在许多生物合成途径中整个多酶系统能够受到协调方式的阻遏，最后的结果是所有各种氨基酸的极大节约。

细菌中导致氨基酸生成的大部分生物合成途径是受别构和阻遏机制的联合来调节的。这种调节机制常常是复杂的，且随不同种类而异。当生物合成途径包含有形成二个（或更多）不同的氨基酸分支时，反馈和阻遏机制变得更为复杂。例如二个终末产物可以显示出在序列中第一个酶的协同抑制，因此这二个终末产物分开时就没有效应，但同时存在时，则有很强的抑制作用。在其他的情况下，每个终末产物占有一定百分比的抑制作用可以累加起来，显示出累积性抑制。另外一种类型的控制是由具有多种形式的调节酶即同功酶产生的。图25-16显示在大肠杆菌中三个芳香族氨基酸生物合成中的第一个酶，即醛缩酶，能使赤藓糖4-磷酸和磷酸烯醇丙酮酸缩合。此酶以三个不同的同功酶形式存在。每个酶都受三个终末产物——苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸中的一个所抑制。但色氨酸是效力最差的抑制剂。假若只需要合成一种或二种芳香族氨基酸，就可以通过这种方式调节这一酶促步骤的流量。此外醛缩酶的三个同功酶中每一个的生物合成也是专一地受其相应的终末产物抑制剂所阻遏。催化分支酸转变为预苯酸的同功酶也能单独地受到抑制与阻遏。反馈抑制的类型和一定途径的阻遏因不同种类而异。

特别值得注意的是对大肠杆菌的谷氨酰胺合成酶活性有影响的一组异常的多价别构控制。谷氨酰胺是许多代谢产物的前身物或氨基的供体（图25-17）。现已相信，在大肠杆菌中，谷氨酰胺代谢的8个产物，对谷氨酰胺合成酶的活性起着分别的和独立的负反馈抑制物作用，这一合成酶或许是目前已知的最复杂的调节酶。E. R. Stadtman 和其同事们的工作表明大肠杆菌的谷氨酰胺合成酶含有12个相同的亚基，排列成二个六角形层（图25-18），每个亚基的分子量是50000。此酶包括两种形式，即活动的或游离的形式以及共价的经过修饰了的失活形式。活性形式的酶在其它代谢物中尤其受AMP和色氨酸的别构反馈抑制。12个亚基中的每一个有与底物ATP相结合的部位，也有与每个反馈抑制

物相结合的部位，通过与 ATP 的酶促反应，谷氨酰胺合成酶可以发生共价性的修饰，并产生相对地无活性的腺苷酰化的形式。后者含有 12 个分子的腺苷酸，并且通过它们的 5'-磷酸基团与 12 个亚基的每一个中专一的酪氨酸残基上的羟基连结起来。在专一酶的作用下，腺苷酰化形式的酶可以脱腺苷酰化。

动物组织中的谷氨酰胺合成酶是含亚基较少的比较小的蛋白质。它不显示大肠杆菌的合成酶那样的复杂的别构行为。大鼠脑组织中的酶很少有或没有调节活力。反之，肝脏的酶仅受少数调节剂的影响。因为在不同类型的细胞中，谷氨酰胺起着不同的代谢作用。谷氨酰胺合成酶的别构行为似乎有各种不同方式的演化。

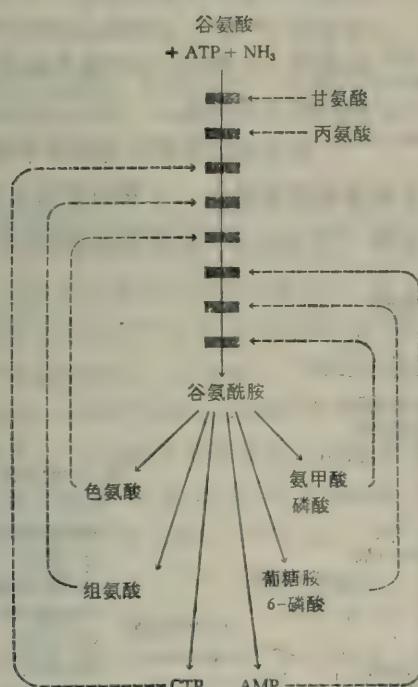


图 25-17 谷氨酰胺合成酶的多价性别构抑制。虽然甘氨酸和丙氨酸不是谷氨酰胺代谢的直接产物，但它们都是极强烈的抑制物。这点提示细胞内甘氨酸和丙氨酸的稳态水平同谷氨酰胺的合成和代谢有着重要关系。

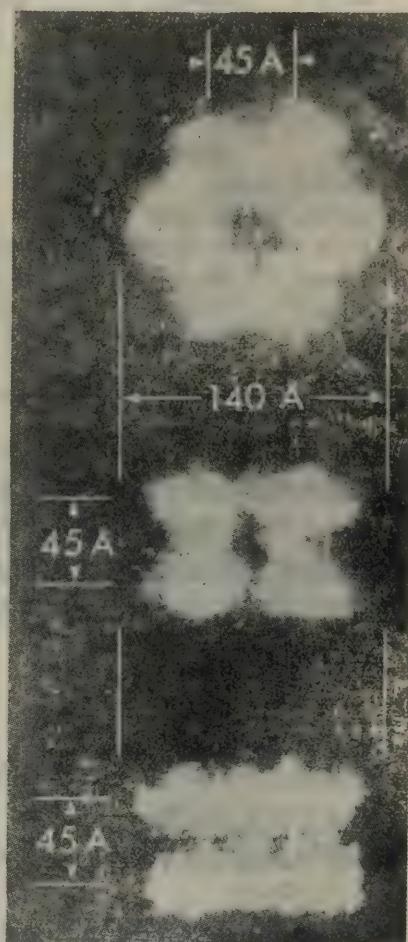


图 25-18 大肠杆菌谷氨酰胺合成酶分子的电子显微镜照片，显示出 12 个亚基的排列。
(此照片由已故的 Robin Valentine 摄影，由 E. Stadtman 提供)

氨基酸的前身物功能

氨基酸除了作为蛋白质的基本单位以外，还是许多其他重要生物分子，如各种激素、维生素、辅酶、生物碱、卟啉类、抗生素、色素和神经递质的前身物。表 25-1 显示从某些氨基酸来的生物分子的一些例子。芳香族氨基酸作为前身物尤其是多方面的。从这类氨基酸可生成许多生物碱，如吗啡、可待因和罂粟碱，以及许多激素，如甲状腺的激素甲状腺

素、植物激素吲哚乙酸和一种肾上腺的激素肾上腺素。下面将简述从各种氨基酸前身物转变为其他产物的一些主要途径。

表 25-1 一些氨基酸的前身物功能

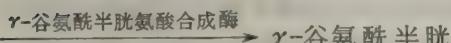
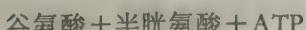
精氨酸	巯组氨酸三甲内盐	吗啡
精 胺	赖氨酸	可待因
亚精胺	尸 胺	墨 粒 碱
腐 胺	新烟胺	色氨酸
门冬氨酸	毒芹碱	菸 酸
嘧啶类	鸟氨酸	5-羟色胺
谷氨酸	天仙子胺	犬尿喹啉酸
谷胱甘肽	丝氨酸	吲 哚
甘氨酸	神经鞘氨醇	粪 臭 素
嘌呤类	酪氨酸	吲哚乙酸
谷胱甘肽	肾上腺素	眼 色 素
肌 酸	去甲肾上腺素	缬氨酸
磷酸肌酸	黑色素	泛 酸
四吡咯类	甲状腺素	青霉素
组氨酸	墨斯卡林	
组 肽	酪 胺	

的一般的甲基供给者，但仅仅通过极少的反应形成蛋氨酸的甲基。主要的途径是将 N⁵-甲基四氢叶酸的一个甲基转移给同型半胱氨酸（图 25-19）。N⁵-甲基四氢叶酸的甲基团依次是从少数几个能将一碳功能团给予四氢叶酸的代谢物尤其是丝氨酸而来。一碳基团的来源以及它们代谢的其他方面将在别处讨论。

肽类

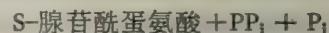
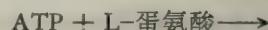
氨基酸是许多肽类的生物学的前身物，其中许多肽如激素——催产素，加压素和舒缓激肽等都有很强的生物学活性。

动物组织中的简单三肽——谷胱甘肽(图 25-20)具有作为氨基酸的运输系统的成分，某些酶的激活剂以及脂类抗自动氧化的保护剂等功能。谷胱甘肽是从 L-谷氨酸，L-半胱氨酸和甘氨酸通过二个步骤合成的。每生成一个肽键需要一分子 ATP 裂解成 ADP 和磷酸。



甲基化化合物的生物合成

蛋氨酸的甲基团被用来作为形成大量甲基化生物分子的前身物。蛋氨酸首先和 ATP 作用而活化，并生成含有高能甲磺酸基的 S-腺苷酰蛋氨酸。



S-腺苷酰蛋氨酸是 40 种不同甲基受体的直接甲基供给体，其中一部分见图 25-19。这种转移由转甲基酶所催化，生成作为去甲基产物的 S-腺苷同型半胱氨酸。

虽然蛋氨酸是作为许多甲基受体

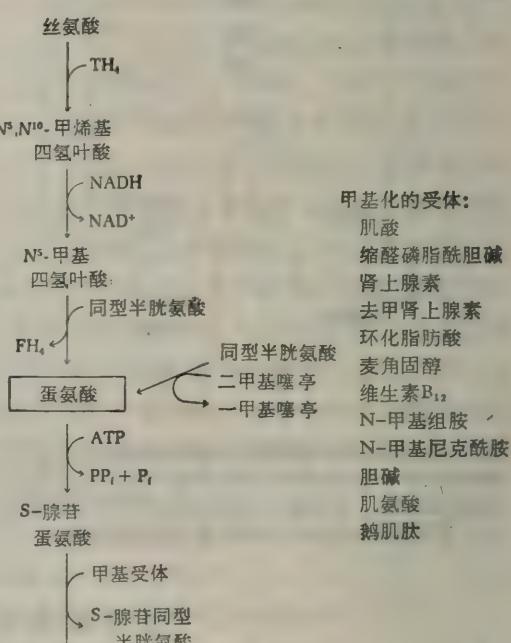


图 25-19 甲基的转移途径和来源。在较高的动物中(以及大多数的植物和细菌)蛋氨酸几乎是全部生物的甲基化过程的关键性中间产物。而丝氨酸是甲基的主要供给者，植物和细菌是利用同型半胱氨酸和丝氨酸制造蛋氨酸。S-腺苷蛋氨酸对许多甲基受体是主要的甲基供给者。在有些微生物中甜菜和二甲基嗜菌可为同型半胱氨酸提供甲基。

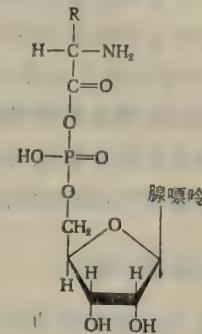
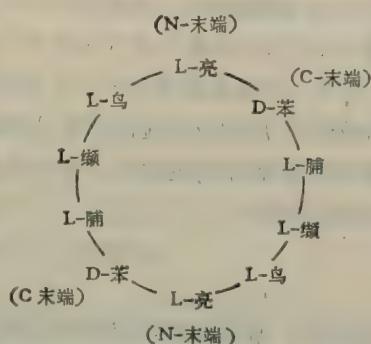
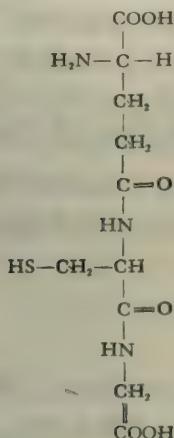
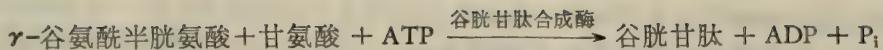
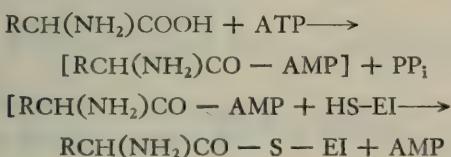


图 25-20 谷胱甘肽(γ -L-谷氨酰-L-半胱氨酸甘氨酸)。值得注意的是，谷氨酸残基是通过 γ -羧基而不是通常的 α -羧基与-肽键相联。

图 25-21 短杆菌肽 S 的结构。文内已叙述了它的生物合成途径。首先二个五肽链形成，是从 D-苯丙氨酸开始作为 C-末端的，然后二个肽链与肽键连接。

图 25-22 氨酰基腺苷酸的一般结构

在细菌中有 20 个肽键那样长的甚至更长的肽类，也是通过酶促作用逐步合成的，而没有 mRNA 模板或核蛋白体的参加。特别值得注意的是由 *Bacillus brevis* 菌细胞酶促合成的环状肽有抗菌能力的短杆菌肽 S (图 25-21)。它有 10 个氨基酸残基。F. Lipmann 和他的同事已经完成了它的生物合成的步骤。此肽含有不存在于蛋白质中的 L-鸟氨酸和 D-苯丙氨酸的残基。它是在二个特殊的酶的可溶性复合体——短杆菌肽合成酶的作用下合成的。分子量为 28 万的酶 I 能催化进入的氨基酸形成一个与酶结合的酰基-AMP 衍生物(图 25-22)。氨酰基然后被转移到酶的 SH 基上。



这个反应中的 SH 基由 4'-磷酸泛酰巯基乙胺供给，后者是与酶 I 以共价键结合的辅基，并和脂肪酸的生物合成中起作用的酰基载体蛋白质相似。在这种方式中，酶 I 按正确顺序在激活合成短杆菌肽 S 所需要的 4 个 L-氨基酸中起作用。

短杆菌肽合成酶复合物的酶 II 以类似的方式激活 L-苯丙氨酸，然后促进 α -碳原子转变成结合的 D-立体异构体。被酯化到酶 I 的氨基酸单位再转移到已附着于酶 II 的 D-苯丙氨酸的游离氨基上以形成一个二肽。然后依次被激活的

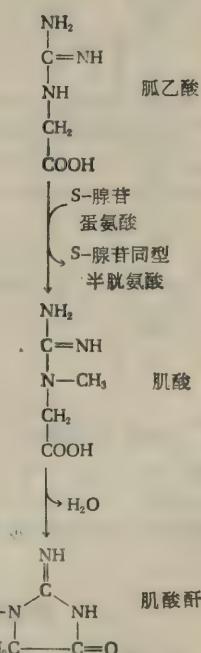


图 25-23 肌乙酸转变成肌酸；S-腺苷蛋氨酸供给甲基(见正文)。哺乳动物中肌酸脱水形成肌酸酐，后者以一降解产物从尿中排出。

L-氨基酸残基被转移到生长着的酶II的肽链上，直至生成五肽酰衍生物：亮氨酸-鸟氨酸-缬氨酸-脯氨酸-D-苯丙氨酸-S-酶II为止。二个这样的五肽链连结成一完全的环状的十肽，如图25-21所示。值得注意的是，合成这些肽的这个酶及类似的酶复合物，有为每一个连续步骤选择适合的氨基酸的能力。这种性质似乎是由于在每一步中肽基-E-II内的诱导的构象变化所赋予的，而这些构象的变化又转移到酶I，使后者的活性中心改变，这样就可使它对加入进来的下一个氨基酸是专一的。因为有些肽抗生素有颇长的链，合成它们的酶类推想是由于十分专一的构象变化而赋予它们有贮存和传递讯息的非常惊人的能力。短杆菌肽合成酶能起十九种不同的反应。然而在动物组织中，肽激素类的合成看来需要mRNA和核蛋白体的参加。

肌酸和磷酸肌酸

正如在其他章节中讨论的那样，肌酸和磷酸肌酸在磷酸键能的贮存和运输上起重要作用。肌酸(α -甲基胍乙酸)是由精氨酸、甘氨酸和蛋氨酸通过下面反应步骤合成的。胍乙酸(图25-23)是一个中间产物，而S-腺苷蛋氨酸是甲基供给体。

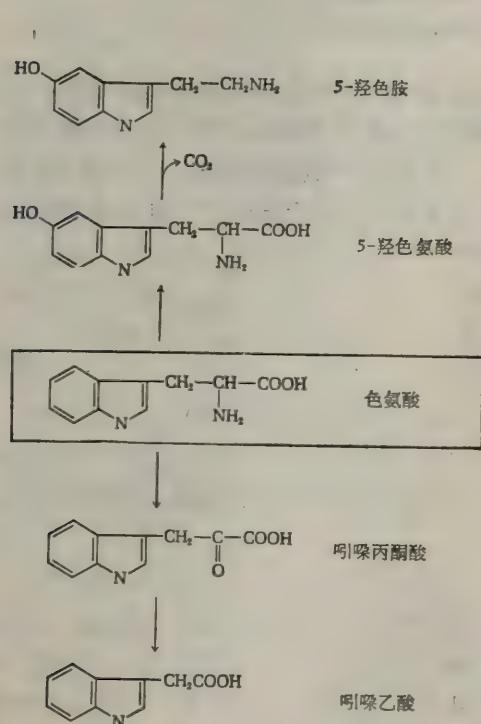


图25-24* 从色氨酸形成5-羟色胺和吲哚乙酸

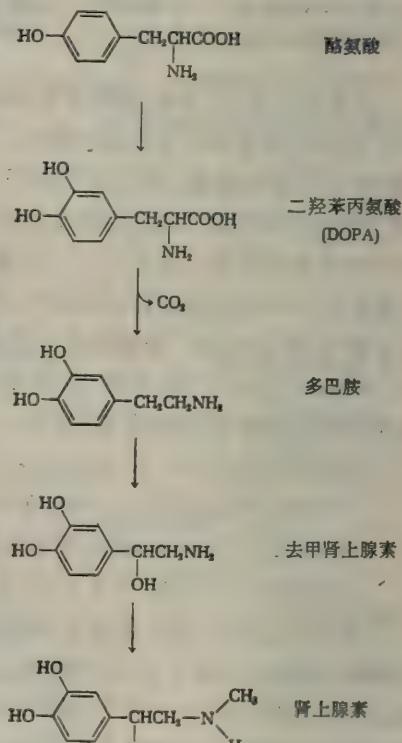
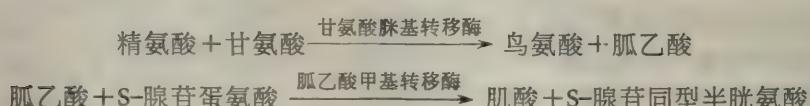


图25-25 酪氨酸转变成去甲肾上腺素和肾上腺素



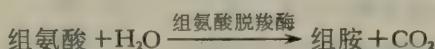
*原图有误，所有N处应为 H ——译者注

5-羟色胺和吲哚乙酸

5-羟色胺是脊椎动物中一种神经递质和血管收缩素，而吲哚乙酸是一种植物生长激素。它们是从色氨酸通过图 25-24 显示的途径形成的。

肾上腺素和去甲肾上腺素

这些由肾上腺髓质分泌的激素，在生理上起调节心率和血压的作用。肾上腺素通过它对腺苷酸环化酶的刺激作用是肝脏和肌肉中糖原降解的激活剂。从酪氨酸形成这类激素的反应见图 25-25。组胺是一个重要的血管扩张剂，由肺、肝、胃粘膜的肥大细胞所分泌，它是由组氨酸经过脱羧作用后生成的。

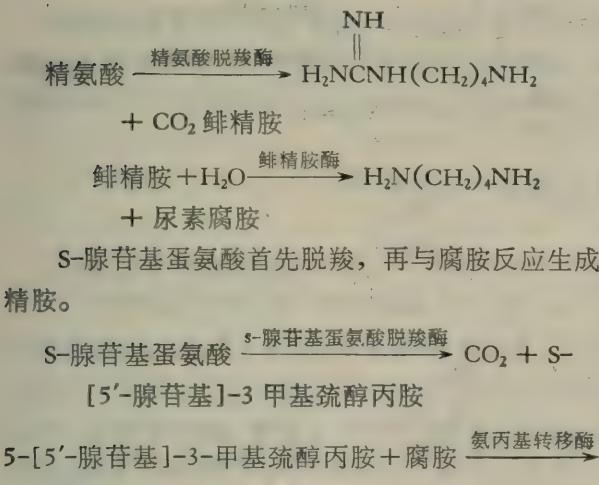


聚胺类

聚胺类精胺和亚精胺(图 25-26)存在于所有的细菌和大多数动物细胞中。它们是某些微生物的生长因子，对细菌的膜结构以及对核蛋白体、某些病毒和许多有机体的 DNA 的结构起稳定作用。聚胺类是由腐胺和 S-腺苷基蛋氨酸形成的。在哺乳动物中腐胺是通过鸟氨酸脱羧酶的作用由鸟氨酸脱羧生成的。



在大肠杆菌中，腐胺是由精氨酸形成的。



亚精胺通过重复最后两个反应转变成精胺。

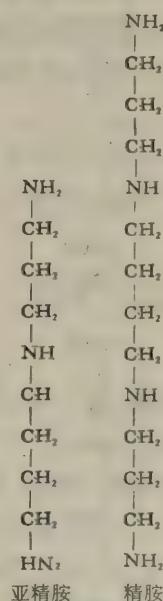


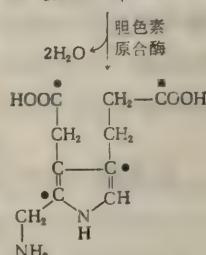
图 25-26 精胺与亚精胺是从精氨酸和蛋氨酸衍生的聚胺类。在细胞的 pH 下，它们以多聚阳离子出现。

卟啉类

因为卟啉核在血红蛋白、细胞色素类、以及叶绿素中的重要作用，故以甘氨酸为主要前身物的卟啉类的生物合成是一个特别重要的途径。四吡咯是由四分子的单吡咯衍生物胆色素原所构成。其合成步骤显示于图 25-27。动物组织中合成的途径主要由 D. Shemin

和他的同事们用同位素示踪物和酶学研究推导出来。甘氨酸首先与琥珀酰辅酶 A 反应生成与酶结合的 α -氨基- β -酮基己二酸，后者脱羧生成 δ -氨基乙酰丙酸。此反应由肝细胞内质网中一种磷酸吡哆醛酶催化的。二分子的 δ -氨基乙酰丙酸在 δ -氨基乙酰丙酸脱水酶的作用下缩合形成胆色素原。这个不平常而且复杂的反应的机制涉及一分子的 δ -氨基乙酰丙酸的酮基与酶的赖氨酸残基上的 ϵ -氨基之间形成了 Schiff 氏碱基这一中间产物。合成酶和脱水酶两者都是调节酶，它们能被这一生物合成途径的最终产物——亚铁原卟啉，血红蛋白和其它亚铁原卟啉蛋白所抑制。然后四分子胆色素原通过一系列的复杂反应充当环状四吡咯原卟啉的前身物。直到原卟啉分子完全形成之前铁均不掺入，铁的掺入要有位于线粒体内的一种酶即亚铁螯合酶的存在。另外一种酶，即亚铁原卟啉合成酶，将 Fe^{2+} ，原卟啉和珠蛋白连结起来形成血红蛋白。图 25-27 也显示出原卟啉 IX 中来自甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 的专一碳原子和氮原子。

2δ -氨基乙酰丙酸



胆色素原

每分子原卟啉需要四个分子

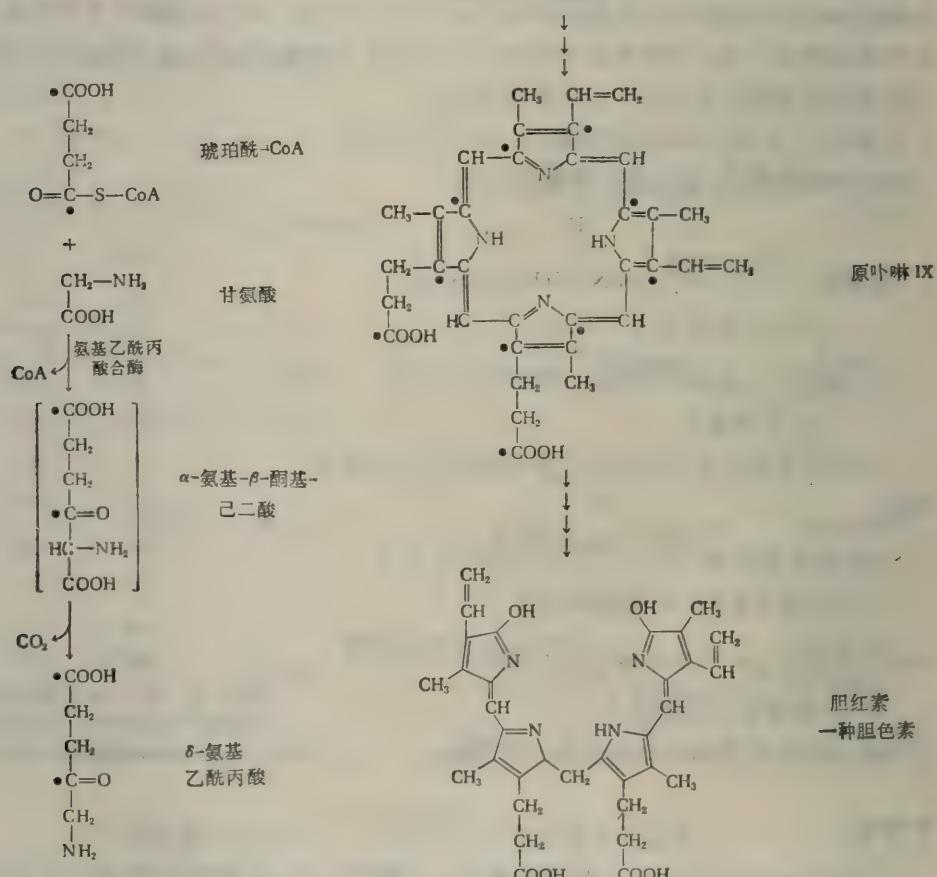


图 25-27 胆色素原的生物合成和胆色素原转变成原卟啉 IX

从甘氨酸来的碳原子和氮原子以较细的字体表示；来自于琥珀酰辅酶 A 羧基的碳原子以·标记。胆红素是原卟啉的一种降解产物。

与卟啉环相类似的维生素 B₁₂ 的咕啉环是从 δ-氨基乙酰丙酸在一个与环状四吡咯有关的途径中合成的。

固氮有机体

在生物界，空气中分子氮的固定即还原成氨和其它生物学上有用的氮的形式是极端重要的过程。然而这种过程只有少数有限的有机体能够进行。大多数豆科植物与 250 种以上的非豆科植物也能固定大气氮。豆类固定氮需要宿主植物和存在于根瘤中的细菌的合作这就称为共生性氮的固定。固定氮的代表性植物包括有：豆类中的豌豆、菜豆、三叶草、紫花苜蓿和大豆等；非豆类植物中的桤木、海鼠李和蜡桃金娘。通过这些豆类作物可以固定大量的大气氮。

那些侵入豆科植物根部的微生物，大多数是各种根瘤菌属的细菌。感染细菌进入根部皮层的薄壁组织中，产生一个瘤结。这是一个高度有组织的结构，具有包含细菌群落的膜状小囊。此根瘤与植物的维管系统直接相连。奇怪的是此种根瘤含有相当量的血红蛋白，而后者在植物界其他地方是不存在的。看来血红蛋白是在低分压时，提高氧到根瘤的运输以间接帮助氮的固定。游离的氧是氮固定的一种抑制剂。根瘤血红蛋白的生物合成的遗传信息来自植物，但细菌不存在时却不能生成血红蛋白。

豆科植物缺乏此类细菌就不能固定氮。然而从宿主植物根瘤取出的细菌加以适当的强化也能固定氮，而游离的培养基中生长的细菌则不能。所以能够下结论即固定氮的酶位于细菌体内，而植物提供了细菌缺乏的某些必需成分。

非共生性氮的固定作用发生在许多微生物中，包括蓝藻类，需氧的土壤细菌固氮菌属，以及兼性细菌——克雷白氏菌属和无色菌属。在厌氧生物中，许多种的梭状芽孢杆菌其氮的固定作用特别活跃。所有的光合细菌都能固定氮。

氮固定的酶促机制

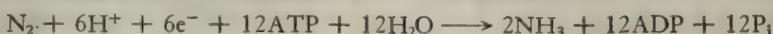
长期以来，氮固定的机制是一个引起争论的生物化学问题，因为分子氮是极端稳定的分子，不容易被化学还原。很难想像，这个惰性分子如何能牢固地和专一性地与氮固定酶的活性部位结合。而且因为较早期想获得能够固定氮的无细胞提取液的努力归于失败，直到最近十年氮固定过程的生物化学研究大部分局限在豆科植物的完整根瘤上，或者固氮细菌的完整细胞上。然而从早期研究中已经推导出氮固定机制的许多重要的性质。在大豆根瘤或蓝藻的固定过程中氮的 K_m 是十分低的，大约是 0.02 大气压的氮。很明显，在正常空气中氮的分压下（约 0.8 大气压）氮固定系统就充分达到饱和。另外一个重要的观察就是氮固定作用能受到一氧化碳的竞争性抑制。后来的研究指出，除氮以外其他的三键化合物如乙炔、氰化物和叠氮化物也可以被还原。事实上乙炔被还原成乙烯 [$\text{CH}_2=\text{CH}_2$] 很适宜于测量氮固定活力，因为乙炔（底物）和乙烯（产物）都很容易用气相层析法分离和测定。其他的观察则与分子氮还原成氨的电子或氢供体的鉴定有关。许多氮固定有机体能利用分子氢于这一目的。但是其他的还原剂如丙酮酸或甲酸也能够为氮还原成氨提供氢或电子。

1960 年 L. E. Mortenson 和他的同事们最后从厌氧细菌巴斯德梭状芽孢杆菌能重复地成功地获得了当补充了适当的电子供体和 ATP 时能固定氮的无细胞提取液。这些提取液中的酶系统称为固氮酶系统。固定反应最早的稳定终末产物是氨。从这些或其它固氮细菌的固氮酶系统发现对分子氧是极为敏感的，氧能使此酶失活，故必须在无氧大气中制备和纯化这个系统。

1964 年 J. E. Carmahan, L. E. Mortenson 和他们的同事们从巴斯德梭状芽孢杆菌提取物中分离了一种蛋白质，他们证明此蛋白质作为固氮酶的电子载体，对氮固定作用是必需的。经过纯化后的因子其分子量为 6000，并含有七个铁原子和七个酸不稳定的硫原子。但不含亚铁原卟啉。他们把这蛋白质称为铁氧还蛋白（此名从铁和氧化还原衍生出来），这是从自然来源中分离出来的许多铁-硫蛋白中的第一个。正如在别处指出的那样，类似的蛋白质也参加线粒体和光合作用两者的电子传递。巴斯德梭状芽孢杆菌的铁氧还蛋白具有一个非常负性的标准氧化还原电位，即 -0.34 V 。还原型铁氧还蛋白在梭状芽孢杆菌的固氮酶系统中起电子供体的作用。有些固氮细菌也含有黄素氧还蛋白，此蛋白在功能上类似铁氧还蛋白，它含有 FMN 但不含铁。

固氮酶系统是两个蛋白质的络合物，两种蛋白质本身单独存在时都没有可表明的活性。其中一种是钼-铁-硫蛋白[以 Mo-Fe 蛋白表示之]分子量接近 220,000。此蛋白质有两种亚基已制成晶体。它含有二个钼原子，32 个铁原子，25 到 30 个酸不稳定的硫原子。另一个成分是一种铁蛋白(Fe 蛋白质)分子量接近 60,000。这些组分是按一份 Mo-Fe 蛋白质和两份 Fe 蛋白质的比例存在。在很低的温度下，两种蛋白质都显出铁-硫原子中心的电子自旋共振信号的特性。

图 25-28 显示氮的固定作用机制的一种假说。还原型的铁氧还蛋白作为中间电子供体。每还原一分子的氮生成二分子的氨需要六个电子。每传递一个电子至少需要一分子的 ATP。事实上，很多证据都表明需要二分子的 ATP。故总方程式为：



还原型铁氧还蛋白在 NADH-铁氧还蛋白还原酶或丙酮酸脱氢酶系的作用下可以再生



ATP 的确切功能尚不知道，但是相信 Mg ATP 与还原型的 Fe-蛋白的结合能使它转

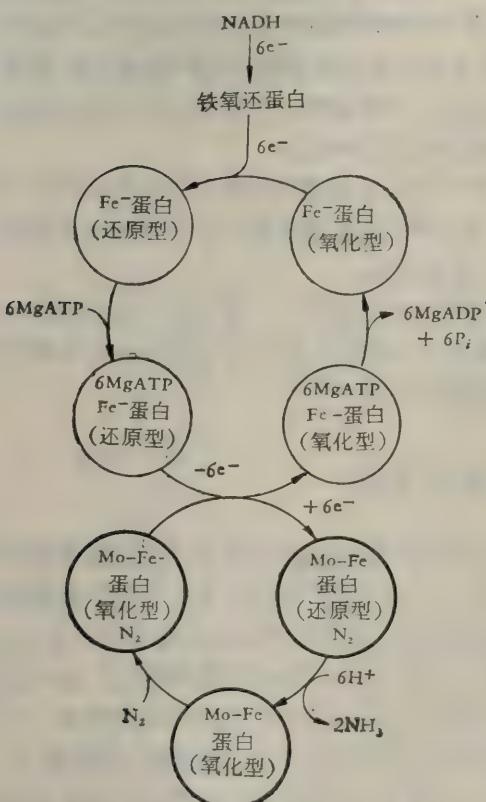


图 25-28 固氮酶系作用的一种假说的图解

变为能与氧化型 Mo-Fe 蛋白反应的构型，并且能将它的电子传递至后者活性部位所结合的 N₂ 上。

固氮酶系的生物合成是受遗传阻遏所调节的。假若供给细胞以充足的氨，则细胞会停止制造此酶。故只在需要它的产物的时候，才发生氮的固定作用。

氮循环中的其它步骤

虽然氨或氨基酸作为还原氮的形式是大多数活有机体利用的形式，某些土壤细菌却能使氨氧化形成亚硝酸，然后使亚硝酸变成硝酸来取得它们的能量。因为这些有机体既非常丰富，又非常活跃，所以几乎所有到达土壤的氨最后都被氧化成硝酸，这个过程称为硝酸化作用。

硝酸化作用以两个步骤出现。在第一步中，氨由几乎是唯一地需氧的化学无机型生物亚硝化毛杆菌属氧化成亚硝酸。实际上氨起了产能燃料的作用，这是由于亚硝化毛杆菌 (Nitrosomonas) 的呼吸作用中氨是主要的电子供体。电子从初级的氨脱氢酶系沿着含有细胞色素的呼吸链流到氧；氧化磷酸化即和这条电子传递相偶联。同样地亚硝酸也被硝化杆菌 (Nitrobacter) 氧化成硝酸，它也从亚硝酸的氧化中获得几乎是它们所有的能量。亚硝化毛杆菌属和硝化杆菌属从 CO₂ 中获得它们生长所需要的碳。

硝酸是高等植物从土壤中可以得到的氮的主要形式。在那些能利用硝酸作为终末电子受体的细菌作用下，某些硝酸会以分子氮的形式从土壤中丧失，这个过程称为脱硝酸化作用。高等植物从土壤中吸收许多硝酸，在高等植物中硝酸盐的代谢性同化成氨的形式经过二个主要步骤：(1)硝酸盐还原成亚硝酸盐；(2)亚硝酸还原成氨。

硝酸盐利用的第一个反应是由硝酸盐还原酶所催化的，此酶广泛分布在植物和真菌中，A. Nason 和他的同事们已在脉孢菌中极彻底地研究过了。此酶是一个既含有钼又含有细胞色素 b 的黄素蛋白，它用 NADPH 作为电子供体。电子流向硝酸盐的全部过程可以图解总结如下：



当硝酸盐还原时，钼经历着在 Mo(V) 与 Mo[VI] 之间的循环价的变化。

通常在无氧和部分无氧情况下，某些微生物可以利用硝酸盐代替氧作为终末电子受体。因为它在生理学上和酶学上与有氧呼吸链有相似性，这个过程通常称为硝酸盐呼吸作用。在大肠杆菌中彻底研究过的呼吸性硝酸盐还原酶能利用甲酸盐作为电子供体并利用细胞色素 b、钼、非亚铁原卟啉铁作为组分。从 ADP 和磷酸形成 ATP 是与硝酸盐呼吸作用相偶联的。

由植物中亚硝酸盐还原酶还原亚硝酸成氨需要一个高电负性的还原剂。在绿色植物中当光合作用进行光反应时，铁氧还蛋白的被还原可作为下面反应链中亚硝酸盐的还原剂：



亚硝酸还原成氨需要输入六个电子。可以回忆呼吸作用还原一分子 O₂ 时需要四个电子。而氮固定作用则每一分子 N₂ 需要六个电子，这些是多电子还原作用的其他实例。在作用

机制方面它们提出了一个谜。最近的研究表明，亚硝酸还原酶以及也是催化六个电子步骤的亚硫酸还原酶都含有一种叫 siroheme 的特殊辅基，它是一种铁卟啉，其中有两个吡咯环是被还原了的。硝酸还原的最终产物游离氨然后可用于 α -酮戊二酸的氨基化，从而为转氨作用提供了氨基。

摘要

在作为蛋白质生物合成所需的基本单位的 20 种氨基酸中，大白鼠和人能够合成 10 种。其余氨基酸是营养上不可缺少的，它们必须从其他来源获得。高等植物和许多微生物能够从以氮作为氮的来源开始以合成全部氨基酸。在营养上可以缺少的非必需氨基酸中，谷氨酸是由 α -酮戊二酸通过还原性胺化作用形成的，而且它是谷氨酰胺和脯氨酸的直接前身物。丙氨酸和门冬氨酸分别由丙酮酸和草酰乙酸通过转氨作用生成的。酪氨酸是苯丙氨酸羟化而形成的，半胱氨酸是从蛋氨酸通过一系列比较复杂的反应形成的，其中以 S-腺苷蛋氨酸、S-腺苷同型半胱氨酸和胱硫醚为最重要的中间产物。半胱氨酸的碳链来自丝氨酸，而其硫原子则来自蛋氨酸。丝氨酸是由 3-磷酸甘油酸合成的，丝氨酸也是甘氨酸的前身物，而它的 β -碳原子则转移到四氢叶酸上。

必需氨基酸的生物合成途径大都是从研究细菌中确立的。蛋氨酸和苏氨酸的碳骨架来自于门冬氨酸，而蛋氨酸的甲基则来自 N^5 -甲基四氢叶酸。赖氨酸可由两条途径合成，即氨基己二酸(细菌)和氨基庚二酸(真菌)途径。异亮氨酸、缬氨酸和亮氨酸的合成则从 α -酮酸开始，并涉及到不常见的烷基迁移，并利用某些共同的步骤。精氨酸是从鸟氨酸形成的，而鸟氨酸又是从谷氨酸衍变来的。芳香族氨基酸的前身物是脂肪族化合物，后者经过环化形成莽草酸，它是许多芳香族生物分子的必要的前身物。莽草酸经过预苯酸生成苯丙氨酸和酪氨酸，经过邻氨基苯甲酸生成色氨酸。生成组氨酸的途径是最复杂和少见的，涉及一个戊糖的碳链和 ATP 上嘌呤环的破碎。

大多数氨基酸的生物合成途径，受别构的或最终产物的抑制；而调节酶常在一序列之首。分支途径上的某些调节酶以同功酶出现，因而它们能对一种以上的调节剂起反应。氨基酸是许多其他重要生物分子的前身物：包括生物学上的活性肽例如谷胱甘肽和抗生素短杆菌肽、肌酸(从甘氨酸和蛋氨酸合成)、激素肾上腺素和去甲肾上腺素(从酪氨酸来)，5-羟色胺和吲哚乙酸(从色氨酸来)以及聚胺类精胺和亚精胺的来自赖氨酸和蛋氨酸。亚铁原卟啉和叶绿素的卟啉环是由甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 衍生的。

在豆类植物根瘤中由细菌产生的氮分子的固定作用是由固氮酶系催化的，此酶由铁蛋白和钼-铁蛋白组成。还原型铁氧还蛋白为还原作用提供电子。每用一个电子还原氮时，至少需要一个 ATP。由土壤有机体引起的氨的硝酸化作用可形成硝酸，而高等植物则使硝酸盐经过脱硝酸化作用而产生 NH_3 ，从而完成了氮的循环。

参考文献

书籍

- Dagley, S., and D. E. Nicholson: *An Introduction to Metabolic Pathways*, Wiley, New York, 1970. The "bible" of metabolic pathways. A comprehensive bibliography is included.
Greenberg, D. M. (ed.): *Metabolic Pathways*, vols. I to III, 3d ed., Academic, New York, 1967—1969.

Excellent papers in review form

- Kun, E., and S. Grisolia (eds.): *Biochemical Regulatory Mechanisms in Eukaryotic Cells*, Interscience, New York, 1972.
- Mandelstam, J., and K. Mequillen: *Biochemistry of Bacterial Growth*, 2d ed., Wiley, New York, 1973. Excellent and complete account of amino acid biosynthesis and its regulation in bacteria.
- Meister, A.: *Biochemistry of the Amino Acids*, vols. I and II, 2d ed., Academic, New York, 1965. Comprehensive review of amino acid biosynthesis and precursor functions, particularly in vol. II.
- Prusiner, S., and E. R. Stadtman (eds.): *The Enzymes of Glutamine Metabolism*, Academic, New York, 1973.
- Stanbury, J. B., J. B. Wyngaarden, and D. B. Fredrickson (eds.): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 3d ed., McGraw-Hill, New York, 1972. Comprehensive review of amino acid metabolism in man and its genetic defects.
- Tabor, H., and C. W. Tabor (eds.): *Metabolism of Amino Acids and Amines*, vols. XVIIA and B of S. P. Colowick and N. O. Kaplan (eds.), *Methods in Enzymology*, Academic, New York, 1970 and 1971.

论文

- Burnham, B. F.: "Metabolism of Porphyrins and Corrinoids," pp. 403—537 in D. M. Greenberg (ed.), *Metabolic Pathways*, 3d ed., vol. III, Academic, New York, 1969.
- Burns, R. C., and R. W. F. Hardy: "Purification of Nitrogenase and Crystallization of Its Mo-Fe Protein," *Methods Enzymol.*, 24B: 480—496 (1972).
- Burris, R. H.: "Fixation by Free-Living Microorganisms: Enzymology," pp. 105—160 in J. R. Postgate (ed.), *Chemistry and Biochemistry of Nitrogen Fixation*, Plenum, London, 1971.
- Datta, P.: "Regulation of Branched Biosynthetic Pathways in Bacteria," *Science*, 165: 556—562 (1969), Multiple feedback control patterns in amino acid biosynthesis.
- Davies, R. C., A. Gorchtein, A. Neuberger, J. D. Sandy, and G. H. Tait: "Biosynthesis of Chlorophyll," *Nature*, 245: 15—19 (1973).
- Eady, R. R., and J. R. Postgate: "Nitrogenase," *Nature*, 249: 805—810 (1974). An excellent review of recent advances.
- Gibson, F., and J. Pittard: "Pathways of Biosynthesis of Aromatic Amino Acids and Vitamins and Their Control in Microorganisms," *Bacteriol. Rev.*, 32: 465 (1968).
- Lipmann, F.: "Attempts to Map a Process Evolution of Peptide Biosynthesis," *Science*, 173: 875—884 (1971).
- Meister, A.: "Specificity of Glutamine Synthetase," *Adv. Enzymol.*, 31: 183—218 (1968). An interesting review, illustrated with color stereophotographs of molecular models of substrates of the enzyme.
- Meister, A.: "On the Synthesis and Utilization of Glutamine," *Harvey Lect.*, 63: 137—168 (1969).
- Murphy, M. J., L. M. Siegal, S. R. Tove, and H. Kamin: "Siroheme: A New Prosthetic Group Participating in 6-Electron Reduction Reactions," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 71: 612—616 (1974).
- Robinson, T.: "Metabolism and Function of Alkaloids in Plants," *Science*, 184: 430—435 (1974).
- Sanwal, B. D., M. Kapoor, and H. W. Duckworth: "Regulation of Branched and Converging Pathways," *Curr. Top. Cell Regul.*, 3: 1—115 (1971).
- Schimke, R. T.: "On the Roles of Synthesis and Degradation in Regulation of Enzyme Levels in Mammalian Tissues," *Curr. Top. Cell Regul.*, 1: 77—124 (1969).
- Stadtman, E. R.: "Allosteric Regulation of Enzyme Activity," *Adv. Enzymol.*, 28: 41—154 (1966). A broad survey of the regulation of metabolic pathways.
- Stadtman, E. R., B. M. Shapiro, H. S. Kingdon, C. A. Woolfolk, and J. S. Hubbard: "Cellular Regulation of Glutamine Synthetase Activity in *Escherichia coli*," *Adv. Enzyme Regul.*, 6: 257—289 (1968).
- Taylor, R. T., and H. Weissbach: "N⁵-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine Methyltransferases," pp. 121—165 in P. D. Boyer (ed.), *The Enzymes*, vol. 9, 3d ed., Academic, New York, 1973.

习题

- 以琥珀酸作为碳的唯一来源开始,写出合成甘氨酸的平衡方程式。
- 以异柠檬酸作为碳的唯一来源开始,写出苏氨酸生物合成的平衡方程式。

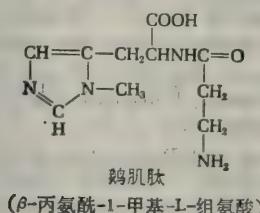
3. 用完整大白鼠做同位素示踪物试验，已经确定图示代谢物上被标记的原子就是肌酸分子中特定原子的前身物（见下式）。从这些观察试构想一个肌酸生物合成的可能途径。



4. 假定有乙酰辅酶 A 可利用。试问从谷氨酸、氨、和二氧化碳生物合成一分子精氨酸需要多少高能磷酸键？

5. 用在 α -碳原子上标记有 ^{14}C 的丝氨酸给予大鼠，发现生成的胆碱在 2-碳原子上有标记 [即 $(\text{CH}_3)_3\text{N}-^{14}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$]。在平行实验中，用在甲基上氘化了的二甲基乙醇胺喂饲动物，投予蛋氨酸时，则产生了被标记甲基的胆碱，投入同型半胱氨酸时则给出了无标记的胆碱。试设想一个胆碱合成的机制。

6. 骨骼肌中存在有二肽——鹅肌肤 (见下式)。你预料将在鹅肌肤的那个碳原子上找到来自 $1-^{14}\text{C-D-核糖}$ 的标记？你将如何测定鹅肌肤甲基的来源？

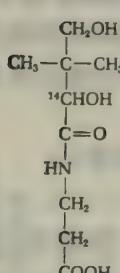
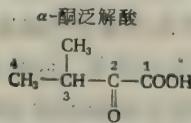
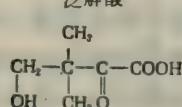
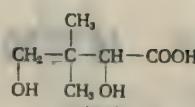


7. 试写出高等植物的光合细胞中从硝酸盐、 NADPH 、 NAD^+ 、 ATP 和 CO_2 形成谷氨酸的平衡方程式。

8. 试写出从 α -酮戊二酸合成脯氨酸的平衡方程式。假若 α -酮戊二酸的 α -羧基碳原子是标记了的，这标记将在脯氨酸的什么地方出现？

9. 在一个不能合成泛酸的细菌变种中，当有对氨基苯甲酸存在时，如给予泛解酸、 α -酮泛解酸或 α -酮异戊酸，则可不需要泛酸。在这个变种细菌中，标记的对氨基苯甲酸不产生标记的泛酸，而 $2-^{14}\text{C-}\alpha$ -酮异戊酸则产生如图所示的标记了的泛酸。在同种的野生型细菌中，发现 $\alpha-^{14}\text{C}$ 门冬氨酸能生成在 β -丙氨酸部分的 β -碳原子上有标记的泛酸。试从

这些观察中推导出泛酸合成的途径。



10. 在丝氨酸和蛋氨酸转变为半胱氨酸时，要用去多少高能磷酸键？假若利用：(a) $2-^{14}\text{C}$ 标记的蛋氨酸或 (b) $2-^{14}\text{C}$ 标记的丝氨酸作为其前身物，试问在形成的半胱氨酸的什么部位将出现标记？

[傅敏庄译 任邦哲校]

第二十六章 核苷酸的生物合成

脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的生物合成是一切细胞的一个主要过程，因为核苷酸是 DNA 和 RNA 的直接前身物，许多核苷酸还作为辅酶参与代谢。核苷酸生物合成的一个重要方面是它们的碱基——嘧啶和嘌呤——的形成途径。除某些细菌外，几乎所有的活有机体，似乎都能从较简单的前身物合成这些碱基。

生物合成核苷酸的途径受到严格的调节。四种主要的脱氧核糖核苷酸和四种主要的核糖核苷酸均以特定的克分子比率插入到细胞的 DNA 和 RNA 内（第三十一章），这是由于将这些调节机制调整到生成适当的核苷酸的“混合”，而这种“混合”是适合于每一种核酸和每一种细胞的。核苷酸及其含氮碱基的使用是经济的，事实上，大多数有机体都不能利用它们来作为产生能量的燃料。许多细胞确实具有利用废物的机制，以回收由于核苷酸水解而产生的游离嘌呤和嘧啶。

本章还将讨论核苷酸辅酶的生物合成途径。

嘌呤核糖核苷酸的生物合成

嘌呤碱生物合成起源的第一个重要线索来自 J. M. Buchanan 及其同事的一些实验。他们以各种可能的同位素前身物饲鸟，并测定标记原子掺入到嘌呤环上的部位。选择鸟做这种实验是因为它们主要以尿酸的形式排泄氮。尿酸是一种嘌呤衍生物，容易被分离为纯净的形式。尿酸的化学降解揭示出嘌呤环中原子的起源。如图 26-1 中所见，第 3 位和第 9 位氮原子来自谷氨酰胺的酰胺基，第 1 氮原子来自门冬氨酸而第 7 氮原子来自甘氨酸。第 4 和第 5 碳原子亦来自甘氨酸，表明甘氨酸分子的骨干直接掺入到嘌呤环。第 2 和第 8 碳原子是由甲酸供给的，而第 6 碳原子则是由 CO_2 供给的。然而，要阐明嘌呤核苷酸生物合成中所涉及的复杂酶促步骤需要数年的研究；Buchanan 和 G. R. Greenberg 的实验室作出了重大的贡献。

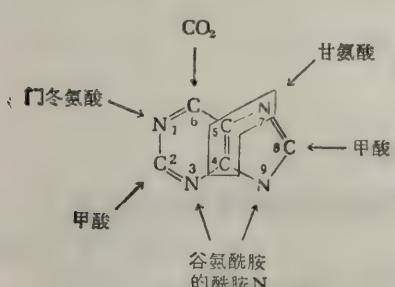


图 26-1 嘌呤环的前身物

与起初预料的首先形成嘌呤环，继而与 D-核糖磷酸侧链相结合相反，最终发现开始的物质是一种激活了的 D-核糖 5-磷酸形式，在其上逐步地建立起嘌呤环，结果直接形成核苷酸。生物合成腺苷酸和鸟苷酸的途径，是从通过酶促焦磷酸化作用激活 α -D-核糖 5-磷酸开始的，并消耗

ATP 而形成 5-磷酸- α -D-核糖 1-焦磷酸（PRPP 图 26-2）。这是一个不寻常的反应，其中 ATP 的焦磷酸基完整地被转移。后面我们将看到 PRPP 也是嘧啶核苷酸的前身物。因此，PRPP 对调节核苷酸的生物合成是重要的，而 PRPP 的形成是由一种别构酶所催化的，此酶被 ADP 和 GDP 所抑制。

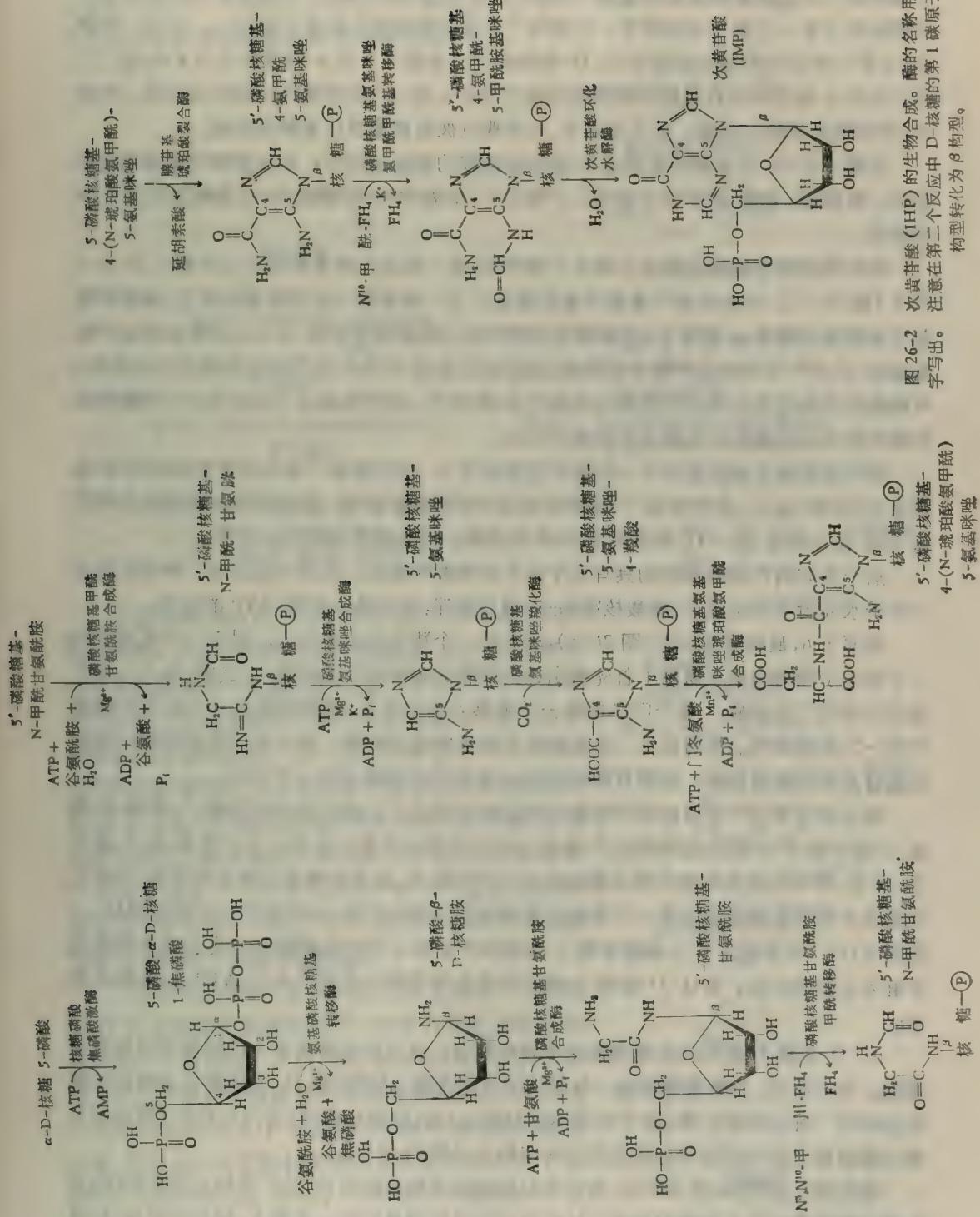


图 26-2 次黄苷酸 (HP) 的生物合成。酶的名称用小号字写出。注意在第二个反应中 D-核糖的第 1 碳原子从 α 构型转化为 β 构型。

构型转化为 β 构型。

在下一步骤中(图 26-2), PRPP 与谷氨酰胺反应, 谷氨酰胺的酰胺部分的氨基便置换戊糖第 1 位上的焦磷酸基而生成 5'-磷酸- β -D-核糖基-1-胺。谷氨酰胺的酰胺氮原子是嘌呤环上第一个被引进的原子, 它相当于完成的嘌呤环上的第 9 氮原子, 在这一步骤中, 由于一种含铁的酶的催化作用, D-核糖的异头碳原子 1 从 α -构型转化为 β -构型。这样引进的 β -构型保留在最终的嘌呤核苷酸产物中。这一反应是嘌呤生物合成的第二控制点; 受嘌呤核苷酸的抑制。如下面所示, 此步骤也被抗菌素氮丝氨酸所抑制。

在第三步中, 甘氨酸的羧基与 5'-磷酸核糖胺的氨基起作用, 在甘氨酸和氨基糖之间形成一酰胺键。需要 ATP 作为能源。产物为 5'-磷酸- β -D-核糖基-1-甘氨酰胺以及 ADP 和磷酸。

现在围绕着甘氨酰胺部分已建立了嘌呤环, 这一部分已含有嘌呤环上的第 4、5、7、9 原子(图 26-2)。其余的原子是逐个地引进的。下一步是把一碳甲酰基加在 5'-磷酸核糖基甘氨酰胺的游离 α -氨基上, 生成将变为嘌呤环上的碳原子 8(图 26-2)。甲酰基是由甲酰基载体 N⁵,N¹⁰-甲川四氢叶酸所提供的, 而后者又是从 N⁵,N¹⁰-亚甲四氢叶酸衍生而来的。甲酰碳原子的正常生物学来源是丝氨酸的 β -碳原子, 但甲酰基也可能经由 N¹⁰ 甲酰四氢叶酸的形成从内源性的或摄入的叶酸而生成。

嘌呤核苷酸生物合成的下一步是引进氮原子 3, 这个氮原子是从谷氨酰胺的酰胺基衍生来的(图 26-2), 结果形成 5'-磷酸核糖基-N-甲酰甘氨脒。从谷氨酰胺转移氨基需要从 ATP 输入能量, 而 ATP 则分裂为 ADP 和磷酸。氮丝氨酸也阻抑此步骤。

这个反应的产物是嘌呤的具有五个原子的咪唑环部分。在下一反应中, 咪唑环除去一分子水而封闭并生成 5'-磷酸核糖基-5-氨基咪唑, 这也是一个需-ATP 的反应。

碳原子 6, 最终来自 CO₂(图 26-1), 现在一个羧化反应中引入。只有一个氮原子和一个碳原子尚待引进。氮原子首先被引进到即将成为嘌呤环的位置 1 上(图 26-1)。这个氮原子来自门冬氨酸。整个门冬氨酸分子被掺入而生成 5'-磷酸核糖基-4-(N-琥珀酸氨基甲酰)-5-氨基咪唑。接着从这一化合物除去游离的延胡索酸。催化后一反应的酶可能就是腺苷基琥珀酸裂合酶。在腺苷酸的生物合成中它催化较后的一个反应。

现在通过将 N¹⁰-甲酰四氢叶酸的甲酰基转移到几乎完成的核糖核苷酸 5'-磷酸核糖基-4-氨甲酰-5-甲酰胺基咪唑的 5-氨基上而引进嘌呤环第 2 位置上还空着的那个碳原子。于是, 嘌呤环系统的嘧啶部分就此除去水封闭起来, 形成核糖核苷酸次黄苷酸(IMP), 它是这个生物合成途径中第一个具有完整嘌呤环系统的产物。此环的封闭不像咪唑环, 不需要 ATP。如果假定从 5'-磷酸核糖 1-焦磷酸所置换出来的焦磷酸基最终也被焦磷酸酶水解为正磷酸的话, 则从 D-核糖 5'-磷酸形成次黄苷酸总共用了六个 ATP 的高能磷酸基。

从 D-核糖 5'-磷酸到次黄苷酸的反应序列中, 有三个步骤被专一的抗菌剂所特殊地抑制。如上所示, 由链霉菌属的一种形成的抗菌素氮丝氨酸(图 26-3)阻断谷氨酰胺的酰胺基的两个酶促转移步骤。这个抗菌素在结构上与谷氨酰胺相似, 并与之竞争(图 26-3)。氮丝氨酸显然是阻断催化这些反应的转移酶中必需的-SH 基。

磺胺类抗菌药物(图 26-4), 由于它们抑制许多细菌的生长, 已广泛地应用于医疗。对敏感的微生物它阻止叶酸的形成, 从而通过间接抑制最后的一步即 5'-磷酸核糖基-4-氨甲酰-5-氨基咪唑的甲酰化, 而阻止嘌呤的生物合成。磺胺类在结构上与叶酸的基本单位

对氨基苯甲酸(图 26-4)相似。在叶酸生物合成时,对氨基苯磺酰胺和其他磺胺类药物通过竞争性抑制作用而阻止对氨基苯甲酸的掺入。结果,游离的 5'-磷酸核糖基-4-氨甲酰-5-氨基咪唑蓄积在敏感的微生物培养基中。

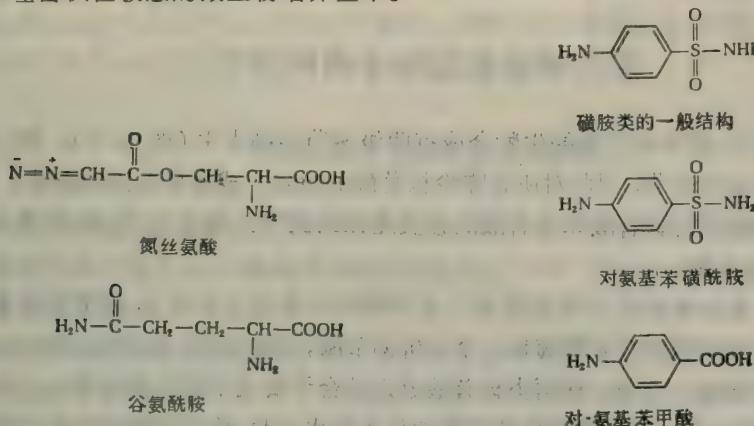


图 26-3 氨丝氨酸,与谷氨酰胺相似的一种抗菌素。

图 26-4 对氨基苯磺酰胺,叶酸生物合成中对-氨基苯甲酸的一种竞争物。

从次黄苷酸转变为腺苷酸和鸟苷酸的途径

次黄苷酸(IMP)是腺苷酸和鸟苷酸(AMP 和 GMP)的前身物。次黄苷酸转变为腺苷酸(图 26-5)只需要由一个氨基置换第 6 位置上的羟基。然而,这个交换是以迂迴的形式来完成的,通过次黄苷酸与门冬氨酸反应生成腺苷基琥珀酸,这一反应伴随着 GTP 分解为 GDP 和无机磷酸。然后通过腺苷基琥珀酸裂合酶的作用,从腺苷基琥珀酸除去延胡索酸而生成腺苷酸。腺苷基琥珀酸裂合酶就是在次黄苷酸生物合成途径中从 5'-磷酸核糖基-4-(N-琥珀酸氨甲酰)-5-氨基咪唑除去延胡索酸的同一个酶。从 D-核糖 5-磷酸到合成腺苷酸总共需要七个高能磷酸基。

在形成鸟苷酸时(图 26-6),次黄苷酸在一个联结 NAD 的反应中首先脱氢成为一种含有碱基黄嘌呤的核苷酸——黄苷酸。然后,黄苷酸胺化形成鸟苷酸,在这一反应中需要谷氨酰胺作为氨基供体以及 ATP。由于这一步包含了 ATP 分裂出焦磷酸和焦磷酸的最后水解,所以由次黄苷酸转变为鸟苷酸要消耗从 ATP 来的两个高能磷酸基。因此,D-核糖 5-磷酸转变为鸟苷酸一共需要八个高能磷酸基。

通过核苷一磷酸激酶和核苷二磷酸激酶分别催化

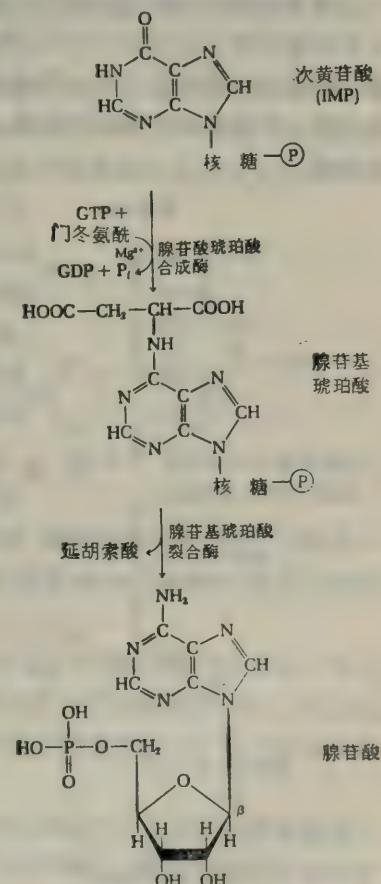


图 26-5 从次黄苷酸转变为腺苷酸的途径

来自 ATP 的高能磷酸基的两次连续的转移，腺苷酸和鸟苷酸分别转变为 ATP 和 GTP。



嘌呤核苷酸生物合成的调节

在大肠杆菌中，嘌呤核苷酸的生物合成有两级调节控制水平（图 26-7）。第一个涉及合成次黄苷酸途径的调节，因此对所有嘌呤核苷酸的生物合成提供共同的调节。第二个是涉及次黄苷酸转变为腺苷酸和鸟苷酸的分支途径的调节，因此它起着调节 AMP 和 GMP 相对数量的作用。

在转移一个氨基酸基到 5-磷酸核糖 1-焦磷酸的早期反应步骤上，调节着次黄苷酸的产生。催化这一反应的酰胺转移酶是一个二价调节酶，它被 ATP、ADP 或 AMP，或 GTP、GDP、或 GMP 所抑制，显然，这两类核苷酸分别结合于酶上不同的别构部位。这个抑制作用是可以累加的，所以当两类嘌呤核苷酸均位于高水平时，酶受抑制的程度大于当只有任何一种存在时。

对 AMP 和 GMP 分支途径的调节有两种方法。其中的第一个是异乎寻常的。应注意从黄苷酸转变为鸟苷酸（GMP）的反应途径需要 ATP 作为反应物，而从次黄苷酸转变为腺苷酸的途径则需要 GTP。因此，过量的 ATP 能加速鸟苷酸的合成途径。相似地，过量的 GTP，则会加速腺苷酸的合成。这种相互补足的安排有助于对 AMP 和 GMP 产生速度的平衡。

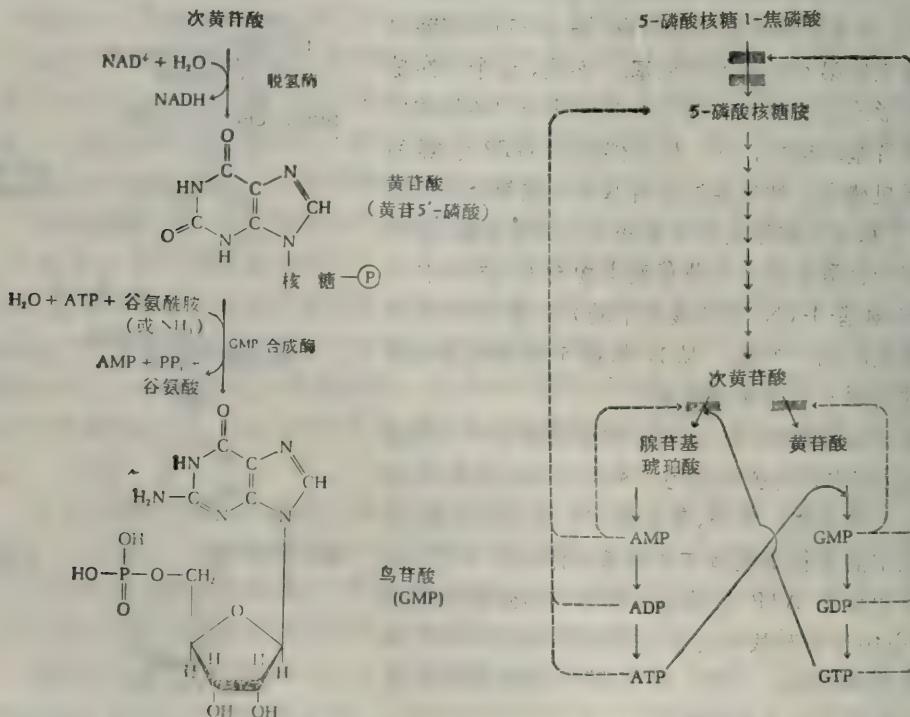


图 26-6 从次黄苷酸转变为鸟苷酸的途径

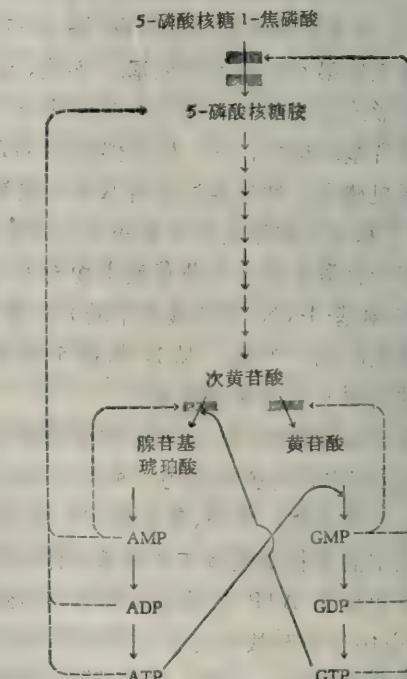


图 26-7 形成嘌呤核苷酸的途径的调节

在 AMP 和 GMP 水平之间的第二种调济是由两个反馈性抑制作用所提供的。一个是由 AMP 对次黄苷酸转变为腺苷基琥珀酸所起的反馈性抑制作用，另一个是由 GMP 对次黄苷酸转变为黄苷酸所起的反馈性抑制作用。调节 AMP 对 GMP 水平的第一个过程是一种加速过程，在这个过程中当 AMP 水平高时，GMP 的合成便加速；而第二个过程是一种减慢的过程，在这一过程中 AMP 和 GMP 延缓其自身的合成。

嘧啶核苷酸的生物合成

嘧啶核苷酸生物合成的途径比嘌呤核苷酸生物合成的途径要简单得多。嘧啶环从其开链前身物形成之后才与 D-核糖 5-磷酸的（也是从 PRPP 衍生而来的）这一半结合，这是和嘌呤途径不同之处。

虽然早期的同位素实验揭示了 CO_2 和氨是嘧啶环的前身物，但我们关于嘧啶生物合成的知识第一个重要的进展来自于对粗糙脉孢菌突变种的研究。此菌缺乏制造嘧啶的能力，因而除非在介质中有胞嘧啶或尿嘧啶存在，否则就不能生长。然而，当有嘧啶衍生物乳清酸（图 26-8）存在时，这种无嘧啶的突变种就能够正常地生长了。乳清酸首先是在牛乳中发现的（希腊文 Oros，即“乳清”）。用同位素标记的乳清酸做试验，证明在脉孢菌和许多细菌中乳清酸是嘧啶的直接前身物。

A. Kornberg 及其同事用图表明经乳清酸合成嘧啶核苷酸的途径，首先合成尿苷酸（UMP）然后再由尿苷酸衍生出胞苷酸（CMP）和脱氧胸苷酸（dTMP）。通过门冬氨酸缩合而形成嘧啶环，由门冬氨酸提供三个碳和一个氮，而氨甲酰磷酸则提供其余的碳和氮原子。在由别构酶门冬氨酸氨甲酰转移酶（aspartate carbamoyl transferase，其较老的名称门冬氨酸转氨甲酰酶 aspartate transcarbamoylase 更为大家所熟知）所催化的反应中，氨甲酰磷酸的氨甲酰基转移至门冬氨酸生成 N-氨甲酰门冬氨酸。这一反应在嘧啶生物合成中是决定性的一步。所需要的氨甲酰磷酸在由氨甲酰磷酸合酶（谷氨酰胺）所催化的反应中

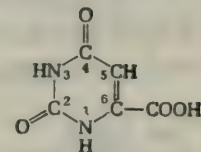
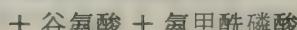
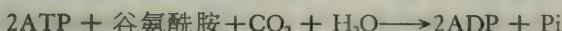


图 26-8 乳清酸(6-羧基尿嘧啶)

生成。在真核生物中，此酶存在于细胞溶质中，这和氨甲酰-磷酸合酶（氨）不同，后者是一种线粒体酶，主要涉及尿素的生成。氨甲酰-磷酸合酶（谷氨酰胺）的作用则主要是为嘧啶的生物合成制造氨甲酰磷酸。

在嘧啶生物合成的第二步中，通过二氢乳清酸酶的作用从 N-氨甲酰门冬氨酸中除去水使环封闭而产生 L-二氢乳清酸。此化合物然后由黄素蛋白乳清酸还原酶氧化而生成乳清酸，这是一个很异乎寻常的反应，它利用 NAD^+ 作为电子的最终受体。这个非常复杂的脱氢酶包含 FAD 和 FMN 两者以及铁-硫中心。

此时，由 5'-磷酸核糖 1-焦磷酸提供的 D-核糖 5-磷酸侧链通过乳清酸磷酸核糖基转移酶的作用连在乳清酸上而生成乳清酸核苷 5'-磷酸或乳清苷酸。乳清苷酸然后脱羧生成尿苷酸（图 26-9）。在某些有机体中最后两步认为是由同一种酶蛋白所催化的。

尿苷酸（UMP）是胞嘧啶核苷酸的前身物。这一转变要求尿苷酸通过下列连续反应

首先磷酸化成为尿苷三磷酸(UTP)，然后UTP在嘧啶环的第4位置上被氨(细菌)或谷氨酰胺(动物)胺化，生成胞苷5'-三磷酸或CTP(图26-10)。在此反应中ATP分裂为ADP和无机磷酸。

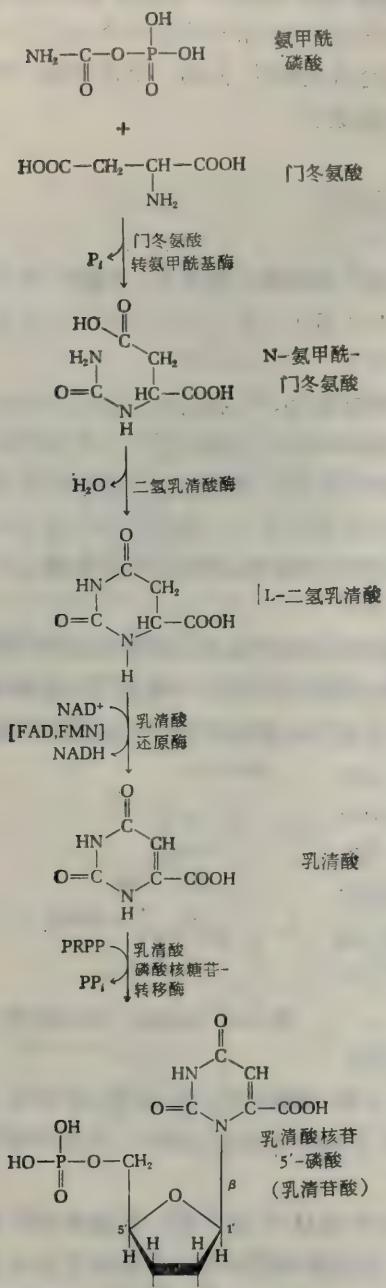
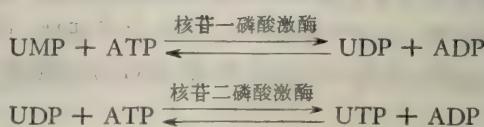


图26-9 尿苷酸的生物合成



乳清酸尿症是人类嘧啶生物合成的一种遗传疾患。患者血液中乳清酸聚积并从尿中排出。发现有这种缺陷的儿童生长不正常，红细胞不能正常形成。进食尿苷或胞苷可使疾患减轻。

嘧啶核苷酸生物合成的调节

嘧啶核苷酸合成速率的调节是许多深入研究的主题，特别是由A. B. Pardee及其同事所创始的那些研究的主题。他们发现大肠杆菌的门冬氨酸转氨甲酰酶催化反应序列中的第一个反应(氨基甲酰磷酸和门冬氨酸缩合生成氨基甲酰门冬氨酸)，能被这一反应序列的终产物CTP所抑制(图26-11)。ATP可防止这种抑制(图26-12)。大肠杆菌的门冬氨酸转氨甲酰酶可能是研究得最彻底的一种别构酶；对其动力学和分子结构已了解甚详。

对门冬氨酸转氨甲酰酶行为的比较研究揭示了在不同有机体中其调节特性变异很大。上述调节模式发生在大肠杆菌和产气气杆菌中，在此模式中，抑制性调节剂是CTP。然而在萤光假单胞菌中，主要的抑制性调节剂是UTP，而在一些高等植物中则为

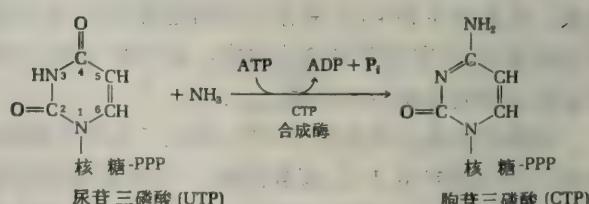


图26-10 UTP被细菌的CTP合酶胺化为CTP

UMP。此外，在有些微生物例如枯草杆菌中，门冬氨酸转氨甲酰酶不被这些化合物中的任何一种所抑制，大概因为它缺乏调节亚基。

再强调一下，5'-磷酸-α-D-核糖1-焦磷酸是嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸两者的共同前

身物,而催化其生成的酶核糖磷酸焦磷酸激酶(图 26-2)是一个别构酶,其抑制性调节剂是 ADP 和 GDP。此外,此酶的合成受嘧啶核苷酸的抑制。

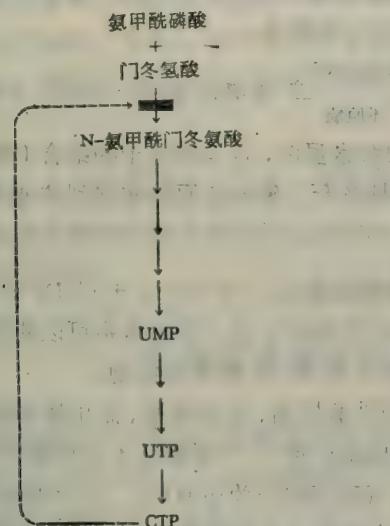


图 26-11 通过终产物抑制门冬氨酸转氨甲酰酶以调节生物合成 CTP 的途径。ATP 可阻止 CTP 的抑制效应。

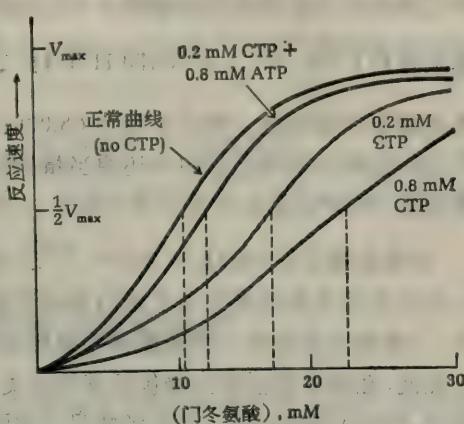


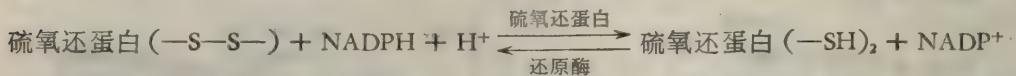
图 26-12 CTP 和 ATP 对门冬氨酸转氨甲酰酶反应的效应。注意: 总途径的终产物 CTP 的浓度增加时, 使产生半-最大速度的底物浓度从约 10 mM 增加到约 23 mM。此效应被 ATP 所逆转。

脱氧核糖核苷酸的生物合成

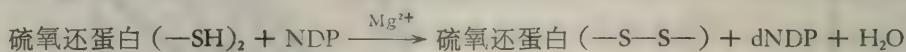
由于脱氧核糖核苷酸不同于核糖核苷酸仅在于前者含有 2-脱氧核糖作为戊糖单位而不是核糖, 所以曾假定脱氧核糖核苷酸是通过上述核糖核苷酸的途径形成的, 磷酸化的核糖前身物被一个类似的 2-脱氧核糖衍生物所替代。因此, 大量早期研究集中在 2-脱氧-D-核糖的生物合成机制上。虽然从较简单的前身物形成游离的 2-脱氧核糖 5-磷酸的酶促途径事实上在有些细胞中是存在的, 但现已知道脱氧核糖核苷酸正常不是从以脱氧核糖作为基本构成单位开始合成的, 而是通过相应的核糖核苷酸的 2'-碳原子直接还原所形成的。指出这一结论的一个重要实验是由 I. A. Rose 和 B. S. Schweigert 用胞苷所进行的, 他们用 ¹⁴C 标记了胞苷的嘧啶环和核糖。当将上述胞苷给予动物或细菌细胞时, 此化合物便被掺入到 RNA 的胞苷酸残基和 DNA 的脱氧胞苷酸残基中。在胞苷酸和脱氧胞苷酸残基中, 嘧啶和核糖(或脱氧核糖)部分同位素的比率相同。这一发现表明在 DNA 中标记了的脱氧胞苷酸残基形成之前, 核糖部分没有从标记的胞苷的胞嘧啶环上脱下来。如果核糖首先脱下来, 它会在脱氧核糖核苷酸形成之前, 被非同位素的核糖或脱氧核糖所稀释, 在嘧啶和戊糖残基中 ¹⁴C 的比率就有相应的改变。在无细胞的细菌提取液上所做的直接同位素试验随后即证实了标记的核糖核苷酸实际上直接转化为相应的脱氧核糖核苷酸。

随着种类的不同, 似乎有两个直接还原核糖核苷酸的途径。P. Reichard 及其同事曾证明, 大肠杆菌中所有四种核糖核苷二磷酸(ADP, GDP, UDP 和 CDP)均被一多酶体系各自直接还原为相应的脱氧类似物 dADP, dGDP, dUDP 和 dCDP。在全过程中, 核糖部分还原为 2-脱氧核糖所需要的一对氢原子最后是由 NADPH 和 H⁺ 所供给的。然而,

直接的电子供体不是 NADPH，而是一种还原型的耐热的小蛋白质（108 个氨基酸残基）称为硫氧还蛋白，它有两个游离的-SH 基，是由两个半胱氨酸残基所提供的。硫氧还蛋白能可逆地氧化与还原。其氧化型或二硫化物型含有一个胱氨酸残基，在由硫氧还蛋白还原酶所催化的反应中被 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 还原为二硫醇型：



硫氧还蛋白还原酶是一种分子量为 68,000 的黄素蛋白，含有两分子的结合 FAD。然后，所形成的还原型硫氧还蛋白的还原当量被核糖核苷二磷酸还原酶转移到核糖核苷 5'-二磷酸受体 (NDP) 上去：

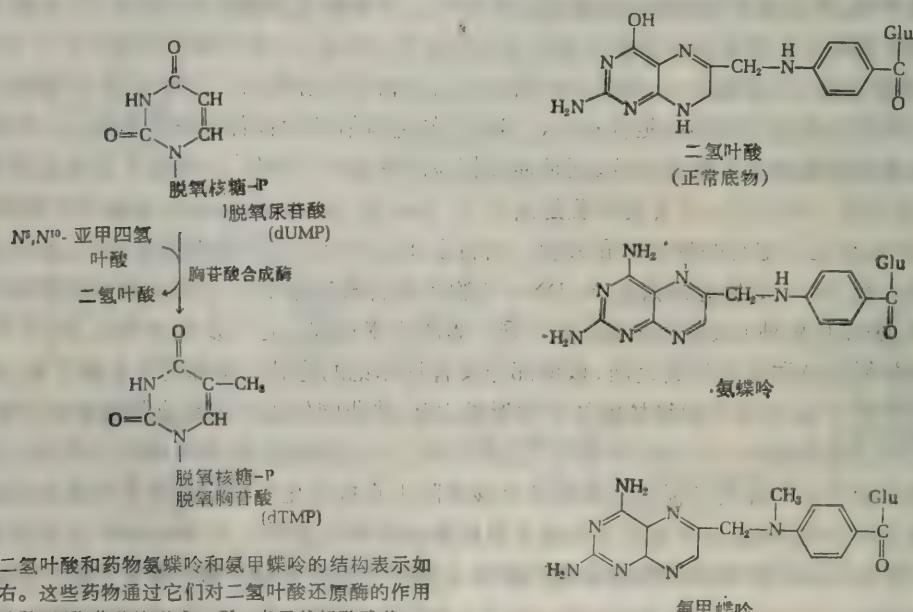


这一反应甚为复杂并需要两个蛋白质或亚基以及 Mg^{2+} 。这一完整体系可以使四种核糖核苷 5'-二磷酸中的任何一种还原并生成相应的 2-脱氧-D-核糖类似物。

然而，在各种其他微生物包括某些种类的乳酸杆菌、根瘤菌属、眼虫属和梭状芽孢杆菌属中，则有不同的途径，在许多情况下需要核糖核苷 5'-三磷酸而不是核糖核苷二磷酸。此外，还需要辅酶 B₁₂ 并能用硫氧还蛋白或二氢硫辛酸作为还原剂。由于辅酶 B₁₂ 在以一个碳原子上的氢原子与一个邻近碳原子的一个取代基交换时能够作为中间载体起作用，所以在乳酸杆菌中核糖部分还原为 2-脱氧核糖的机制可能不仅涉及碳原子 2，而且也涉及一个邻近的碳原子。

脱氧胸苷酸的形成

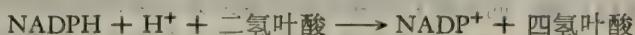
DNA 含有胸腺嘧啶(5-甲基尿嘧啶)而不是存在于 RNA 中的尿嘧啶。在一个需要叶



二氢叶酸和药物氨蝶呤和氨甲蝶呤的结构表示如右。这些药物通过它们对二氢叶酸还原酶的作用而抑制胸苷酸的形成。Glu 表示谷氨酸残基。

图 26-13 dUMP 甲基化成为脱氧胸苷酸

酸辅酶 N⁵, N¹⁰-亚甲四氢叶酸(图 26-13)作为甲基供体参加的反应中,由胸苷酸合成酶催化尿嘧啶那部分的甲基化,因而从脱氧尿苷酸(dUMP)形成了脱氧胸苷酸(dTMP)。胸苷酸的合成亦即 DNA 的合成能被药物氨蝶呤和氨基蝶呤所大大延缓(图 26-13)。这些药物称为抗叶酸药,可以使某种癌症特别是白血病的生长减慢。因为它们在结构上与二氢叶酸相似,故它们通过二氢叶酸还原酶的作用竞争性地抑制了二氢叶酸转化为四氢叶酸。



胸苷酸的形成对四氢叶酸水平的降低特别敏感。迅速分裂的恶性白细胞中的 DNA 合成就这样受到了抑制。

脱氧核糖核苷酸生物合成的调节

在大肠杆菌中,一套调节脱氧核糖核苷酸生物合成的别构机制(图 26-14)涉及到还原型硫氧还蛋白和 NDPs(各类二磷酸核苷)之间的反应,这个反应是由上述核糖核苷二磷酸还原酶系所催化的。此酶还原 CDP 为 dCDP 和 UDP 为 dUDP 的作用极大地被 ATP 所加速,而 ADP 还原为 dADP 和 GDP 还原为 dGDP 的作用则被 dGTP 和 dTTP 所刺激。另一方面,对所有核糖核苷 5'-二磷酸的还原作用,dATP 都起着反馈抑制剂的作用。

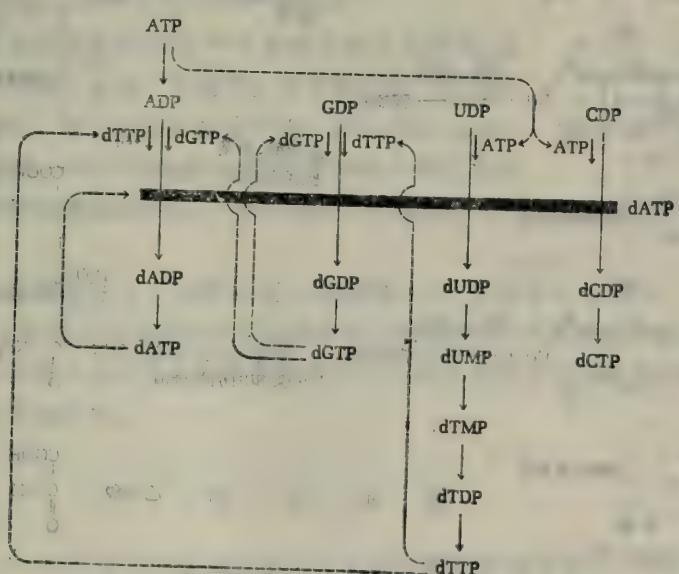


图 26-14 脱氧核糖核苷 5'-三磷酸生物合成中的别构控制机制。ATP、dGTP 和 dTTP 是重要的刺激性调节剂而 dATP 则是一种普遍的抑制剂。

由于 5'-磷酸核糖 1-焦磷酸是核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸两者的戊糖单位的最终来源,别构抑制剂 ADP 和 GDP 对核糖磷酸焦磷酸激酶的调节作用在脱氧核糖核苷酸的生物合成中也是重要的。

嘌呤的降解作用

高等动物中，由于核酸酶的作用从核酸降解所产生的核苷酸通常经过酶促水解作用最后生成游离的嘌呤碱和嘧啶碱。如果不去挽回而重新使用，则游离碱基将进一步降解而最终产物将排出。在某些脊椎动物包括灵长类、Dalmatian 狗，鸟类和某些爬虫类，尿酸是嘌呤降解的最终产物，而在其它哺乳动物和爬虫类以及软体动物类中，则尿囊素为终产物。在鱼类，尿囊素分解为尿囊酸和尿素。在许多水生无脊椎动物，则氨是嘌呤分解代谢的主要含氮终产物。很奇怪，在蜘蛛和猪中鸟嘌呤是嘌呤的排泄形式。图 26-15 中所示的反应是嘌呤降解中主要步骤的梗概。

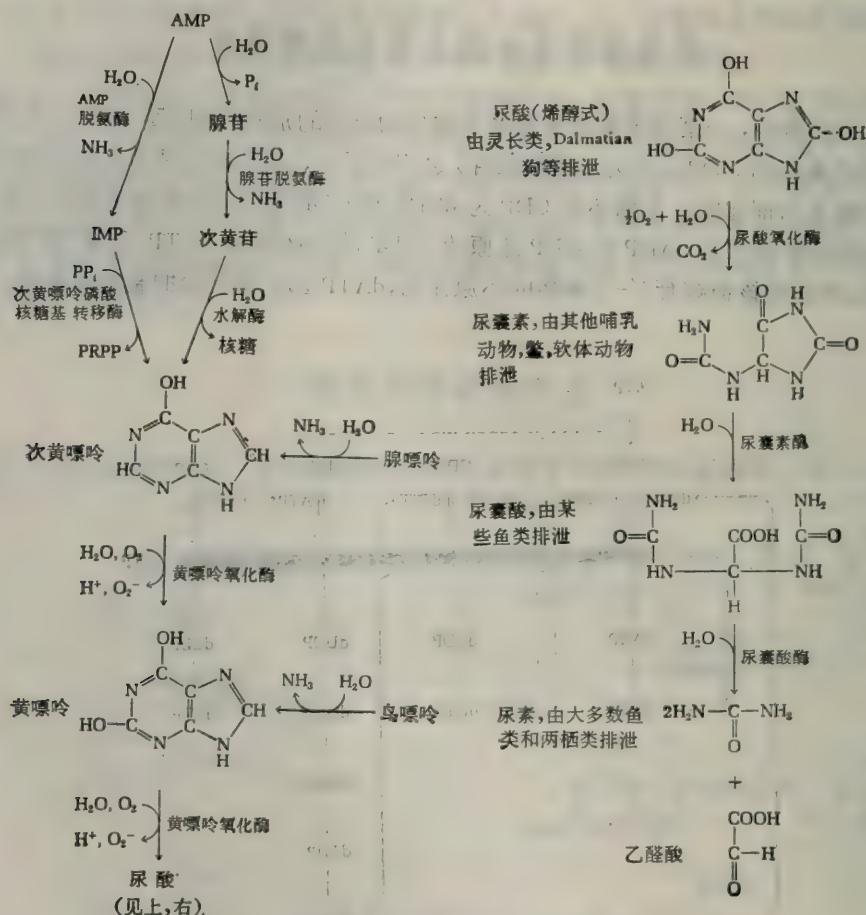


图 26-15 嘌呤降解为含氮排泄产物

因为这一途径的遗传失常是大家所知道的，故嘌呤在人体中降解为终产物尿酸已作过充分的研究。主要的嘌呤腺嘌呤和鸟嘌呤首先转化为黄嘌呤（图 26-15），然后再被复合黄素蛋白黄嘌呤氧化酶氧化为尿酸：

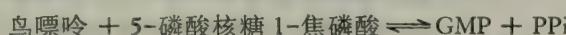
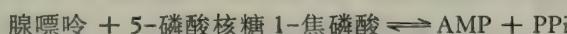


此超氧物根受超氧物歧化酶的作用转化为过氧化氢。在排泄尿酸的脊椎动物身上所进行

的同位素研究表明尿酸是由外源性和内源性核酸两者都可衍生出来的。虽然每天形成的游离嘌呤达5克，但正常人每天只排泄约0.5克的尿酸；显然大部分的游离嘌呤通过下述途径被补救或再循环。存在于血液中的尿酸大都是尿酸一钠，然而，游离尿酸和尿酸盐两者均颇不溶于水，因而在某些个体中尿酸在尿中沉淀并结晶，形成肾结石而引起这个器官的损害。在软骨组织中也可形成尿酸沉积而产生痛风病。此病显然是由于尿酸产生过多所引起。用药物别嘌呤醇（图26-16）治疗可使此病减轻。别嘌呤醇是次黄嘌呤的一种类似物。它抑制黄嘌呤氧化酶，因而减少尿酸的形成。

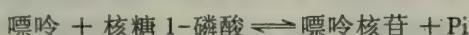
嘌呤的补救作用

脊椎动物中从核苷酸形成的游离嘌呤（图26-15）被补救再用于核苷酸和核酸的生物合成。主要机制是通过腺嘌呤磷酸核糖基转移酶和鸟嘌呤（或次黄嘌呤）磷酸核糖基转移酶的作用：

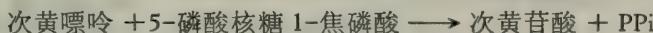


这些重要酶类将游离嘌呤转化为相应的嘌呤核苷5'-磷酸而再利用。

另一补救途径是由嘌呤核苷磷酸化酶和核苷激酶例如腺苷激酶的连续作用所促进的：



由于人所形成的游离嘌呤的90%都被补救并再循环，这些补救途径，特别是上述第一个途径，在脊椎动物节约嘌呤方面是非常重要的。缺乏这些补救途径的一种是引起Lesch-Nyhan综合症。这是一种少见的遗传疾病，这种病人缺乏鸟嘌呤（次黄嘌呤）磷酸核糖基转移酶。这种酶催化核糖磷酸基从PRPP转移到鸟嘌呤或次黄嘌呤：



当此酶缺乏时，鸟嘌呤和次黄嘌呤均不能被补救，因此都进一步降解为尿酸。Lesch-Nyhan综合症的病人表现精神症状包括非常爱挑衅的行为和自我毁伤的奇怪倾向以及尿酸大量沉积在肾脏中而引起肾衰。

嘧啶降解

在许多种类中，嘧啶降解为尿素和氨。在β-丙氨酸的生物合成中，因此也在辅酶A的生物合成中，它们可以被利用来作为前身物。图26-17表示胞嘧啶和尿嘧啶的主要降解途径。从胸腺嘧啶形成β-氨基异丁酸的途径与图26-17所示者相似。

嘌呤核苷酸循环

在腺苷酸（AMP）生物合成中所涉及的两个反应似乎参与J. Lowenstein所描述的肌

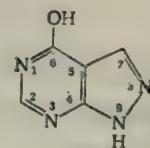
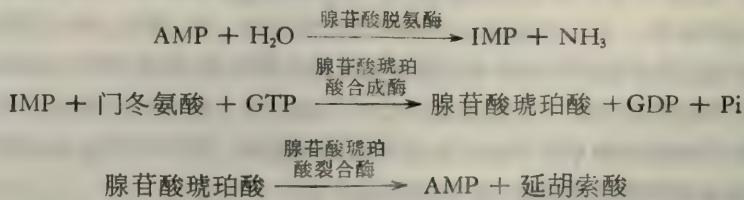
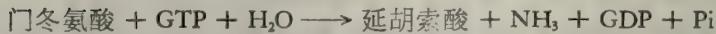


图26-16 别嘌呤醇，黄嘌呤氧化酶的抑制物，是次黄嘌呤的一种类似物，其中7位上的氮原子和8位上的碳原子在位置上是颠倒的。

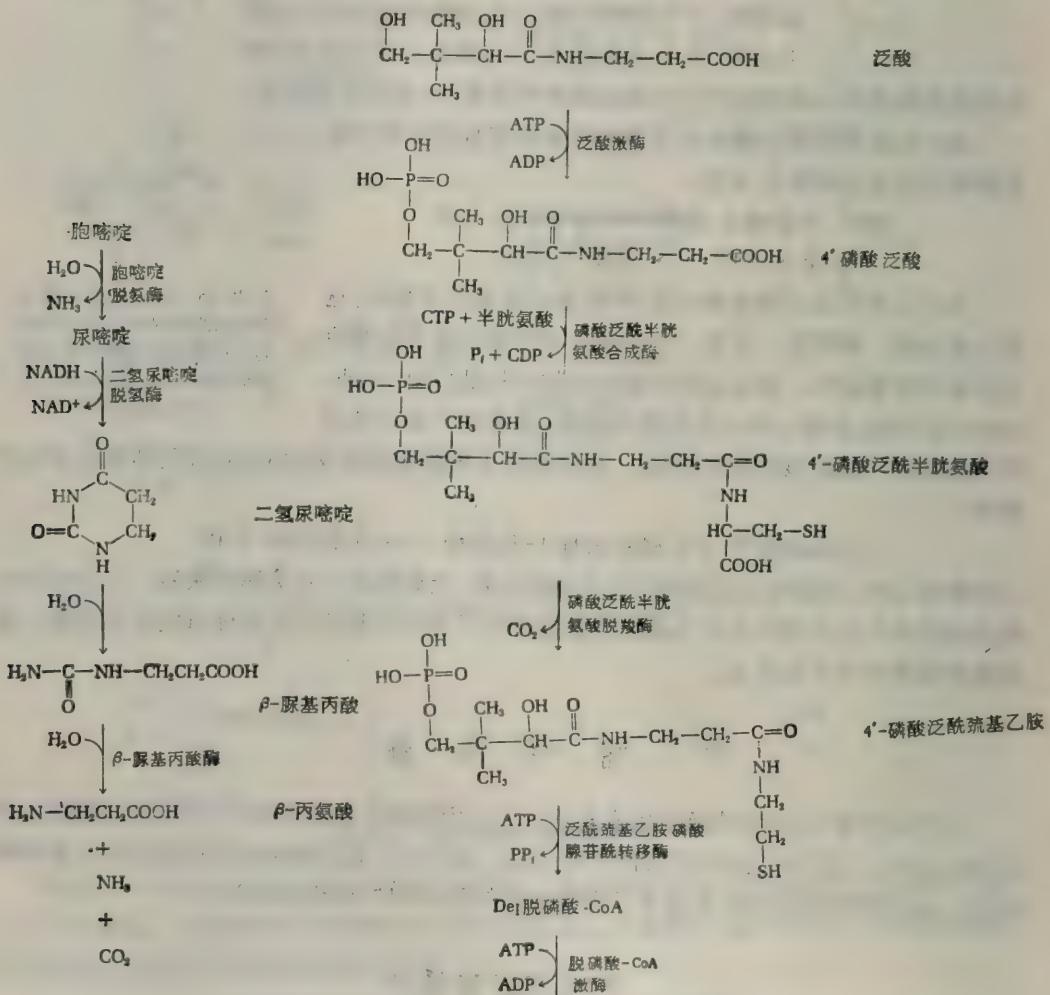
肉组织中门冬氨酸脱氨基作用的循环机制。这个循环也起着重要的调节作用。嘌呤核苷酸循环这个途径由下列连续反应所组成：



加起来：

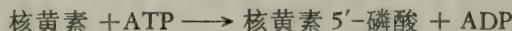


在骨骼肌中此循环的净效应是使门冬氨酸脱氨基而生成氨，骨骼肌所含的谷氨酸脱氢酶不多，而此酶却是肝和其他组织中氨基酸脱氨基作用的关键酶。在肌肉中嘌呤核苷酸循环起了制造延胡索酸的作用，因此对产生其他三羧酸循环中间产物也起作用，肌肉中并不含有能够催化回补反应的其他酶。



核苷酸辅酶类的生物合成

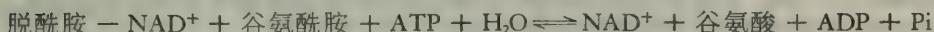
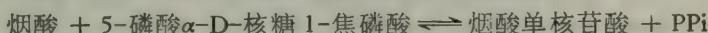
黄素腺嘌呤二核苷酸、吡啶核苷酸和辅酶 A 都是腺苷酸的衍生物。黄素单核苷酸(FMN)不是一个真正的核苷酸，称之为核黄素磷酸更为正确，是通过核黄素激酶的作用从游离核黄素(维生素 B₂)和 ATP 在下列反应中合成的。



然后，通过 FMN 腺苷基转移酶的作用从 FMN 形成 FAD：



在细菌中，NAD 是在下述一系列反应中从游离烟酸合成的：



在细菌中，NAD 的酰胺基是在构成 NAD 的烟酸类似物脱酰胺-NAD 之后结合进去的。然而，在哺乳动物，游离的烟酰胺可以经由烟酰胺单核苷酸而被直接利用，而不是经由游离烟酸和烟酸单核苷酸。通过下列反应可从 NAD⁺ 形成 NADP⁺。



辅酶 A 是从泛酸这一游离维生素开始按图 26-18 所示反应序列装配成的。在最后的反应中，把一个磷酸基引入脱磷酸-辅酶 A 的腺苷部分的 3'-羟基上，生成完整的辅酶 A 分子。

摘 要

腺苷酸和鸟苷酸等嘌呤核糖核苷酸的生物合成是从引入一个氨基开始的。氨基引入到 5'-磷酸-D-核糖 1-焦磷酸的 1 位碳原子上，并失去焦磷酸。然后，甘氨酸连接于氨基上形成甘氨酰胺衍生物。将一个甲酰基和一个氨基相继加入到甘氨酰胺部分后，接着就封闭咪唑环。在随后的反应中，装配并封闭嘌呤核的第二个环，生成第一个含嘌呤的产物次黄苷酸这个核苷酸。次黄苷酸经由腺苷酸琥珀酸成为腺苷酸的前身物，经由黄苷酸成为鸟苷酸的前身物。AMP 和 GMP 的生物合成，在序列中的第一步就被腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸通过别构作用而受到抑制。

嘧啶核苷酸是以稍有不同的型式形成的。在与核糖 5'-磷酸结合之前，以乳清酸的形式合成嘧啶环。然后形成尿苷酸并磷酸化为 UTP。UTP 是 CTP 的直接前身物。嘧啶生物合成中的第一步，由别构酶门冬氨酸转氨甲酰酶催化，在某些有机体中受 CTP 抑制。

核糖核苷 5'-二磷酸类都可被直接还原为相应的 2-脱氧核糖核苷 5'-二磷酸。在大肠杆菌中，电子从 NADPH + H⁺ 转移到氧化型的硫氧还蛋白（它含有胱氨酸残基）使之转变成其二硫醇即还原型硫氧还蛋白。它是各种二磷酸核苷 (NDPs) 转化为各种相应的脱氧二磷酸核苷的直接还原剂。在某些物种中，各种 5'-三磷酸核糖核苷或二磷酸核糖核苷在一个需要辅酶 B₁₂ 的反应中还原为各种相应的脱氧化合物。脱氧胸苷酸是由脱氧尿苷酸的甲基化而形成的。

核酸降解时所形成的游离嘌呤和嘧啶均可被补救而用于核苷酸和核酸的合成或降解而产生含氮的终产物而被排出。人类的嘌呤最终降解物为尿酸而某些其他脊椎动物则最终降解为尿囊素和其他终产物。若人产生尿酸过多并在软骨中沉积的话，则会引起痛风症。鸟嘌呤和次黄嘌呤补救作用的遗传缺陷产生 Lesch-Nyhan 综合症。

核苷酸辅酶类 FAD、NAD、NADP 和辅酶 A 的生物合成，除其相应的前身物之外，还需要 ATP 的参与。

参 考 文 献

书籍

- Dagley, S., and D. E. Nicholson: *An Introduction to Metabolic Pathways*, Wiley, New York, 1970.
Greenberg, D. M. (ed.): *Metabolic Pathways*, vol. IV. Academic, New York, 1970.
Henderson, J. F.: Regulation of Purine Biosynthesis. *Am. Chem. Soc. Monog.* 170, Washington, D. C., 1972.
Henderson, J. F., and A. R. P. Paterson: *Nucleotide Metabolism*, Academic, New York, 1972.
Reichard, P.: *Biosynthesis of Deoxyribose*, Wiley, New York, 1967.
Stanbury, J. B., J. B. Wyngaarden, and D. S. Fredrickson: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 3d ed., McGraw-Hill, New York, 1972. Genetic disorders of purine and pyrimidine metabolism are described in detail.

论文

- Buchanan, J. M.: "The Amidotransferases," *Adv. Enzymol.*, 39: 91—183 (1973). These enzymes participate in purine and pyrimidine biosynthesis.
Friedkin, M.: "Thymidylate Synthetase," *Adv. Enzymol.*, 38: 235—292 (1973). An important review of this important enzyme and its relationship to tetrahydrofolate coenzymes and cancer chemotherapy.
Larsson, A., and P. Reichard: "Enzymatic Reduction of Ribonucleotides," *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 7: 303—347 (1967).
Murray, A. W.: "The Biological Significance of Purine Salvage," *Ann. Rev. Biochem.*, 50: 811—826 (1971).
O'donovan, G. A., and J. Neuhardt: "Pyrimidine Metabolism in Microorganisms," *Bacteriol. Rev.*, 34: 278—343 (1970).

习题

1. 你认为从肝 RNA 水解产物分离出来的腺苷酸的那些原子中可以找到下列前身物的被指定的原子：(a) 乙酰辅酶 A 的羧基碳原子，(b) D-葡萄糖的第 3 碳原子，(c) 丝氨酸的 α -碳原子，(d) 门冬氨酸的氨基氮原子和 (e) 谷氨酰胺的酰胺氮原子？
2. 你认为在大鼠肝 RNA 的胞苷酸的那些原子中可以找到下列前身物的被指定的原子：(a) 草酰乙酸的 β -羟基碳原子，(b) 氨的氮原子，(c) 谷氨酸的氮原子？
3. 如果细胞补救地利用一分子游离腺嘌呤来合成核酸，试计算它“节约”高能磷酸键的数量。
4. 试写出大肠杆菌中从 CO_2 、 NH_3 、ATP、核糖 5-磷酸和草酰乙酸形成 CTP 的平衡方程式。合成一个 CTP 需要多少高能键？为了得到从指出的前身物合成 1 克分子 CTP 所需的足够的 ATP，细胞必须完全氧化多少克分子的 D-葡萄糖？
5. 试写出从烟酸、ATP、葡萄糖和氨形成 NADP 的平衡方程式。
6. 在下列位置上标记了的腺嘌呤裂解对，你认为在人、鲨和两栖类中会产生一些什么标记的终产物？(a) 氮原子 3，(b) 碳原子 5 和(c) 6-氨基上的氮原子。

[唐恢玲译 任邦哲校]

第二十七章 肌肉和运动系统的生物化学

在第三篇的前数章中我们已经看到如何通过偶联酶促反应来利用 ATP 的化学能进行细胞主要成分的生物合成。我们现在转到由分解反应所产生的能量的另一种形式的利用，即 ATP 的化学能转变为收缩的机械能和运动，这是动物能量利用的一种主要途径。例如，一个成年人的肌肉系统在静息状态下约利用由于呼吸作用所产生的总 ATP 能量的 30%。在很激烈的肌肉活动时，如短距离赛跑，肌肉消耗所产生的 ATP 总量的 85% 或 85% 以上。

完成机械功决不限于少数象肌肉这样特殊化了的组织。实际上，几乎一切真核细胞都含有具有收缩性的丝和微管，它们参与几种重要的细胞功能：(1) 细胞内容物的组织；(2) 纺锤体的形成和细胞分裂；(3) 纤毛和鞭毛的活动；(4) 细胞内物质的转运，以及细胞的其它活动，包括机械的紧张、扭转或移位。

变 ATP 的化学能为引起收缩、位移和推进所需要的机械能是生物化学中最棘手的问题之一。一个理由是对于这种类型的能量转化，我们缺乏简单的概念性的模型。实际上，没有能将化学能直接转变为机械能的普通的人造机械。

另一理由是收缩活动的机制不仅仅是一个生物化学问题。我们所知道的大多数新进展都是由生物化学的、生物物理学的和电镜探讨的相互关系得来的。因此，我们将从这一较广泛的观点来研究肌肉收缩和其他机械化学活动。确实，肌肉应该被看成是高效能和高度多能的能量转换器械，若与人造机械相比，它在工程学和机械性能上具有惊人的特征（图 27-1）。此外，它们能够产生巨大的张力，每平方厘米横断面约 3.5 公斤。实际上，人体全部肌肉所能达到的总张力约 30 吨。

即时可用的。直线发动机。强健的和可靠的：通过世界范围持续的现场试验使设计达到最优化。所有的模型都提供了“燃料电池”类型的能量转换的经济性，并且用一种在广泛范围可以得到的普通燃料就能启动。低的可依靠的功率，但却在毫秒以内就能切断或接通多至 1 千瓦机械功/公斤（最高点，干重）。模式的结构，以及有大范围可资利用的亚单位，使其他方法难以对付的机械问题得以贴切地解决。

两种控制系统的选型：

- (1) 外部的触发方式。通用的，一般性目的的单位。由微微焦耳脉冲数字控制。尽管是低的能量输入水平，却有很高的信号-对-噪音比。能量放大接近 10^6 。机械特征：(1 厘米模数) 极大速率；在 0.1 和 100 毫米/秒之间可任意选择。产生的应力；2 至 5×10^{-5} 牛顿米 $^{-2}$ 。
- (2) 自主的具有积分振荡器的方式。尤其适合于泵送的应用。可用的模数具有的频率和机械阻抗，适合于：
 - (a) 固体和浆状物 (0.01—1.0 赫茨)。
 - (b) 液体 (0.5—5 赫茨)：寿命 2.6×10^9 次 (典型的) 3.6×10^9 (极大值) —— 和频率无关。
 - (c) 气体 (50—1,000 赫茨)。

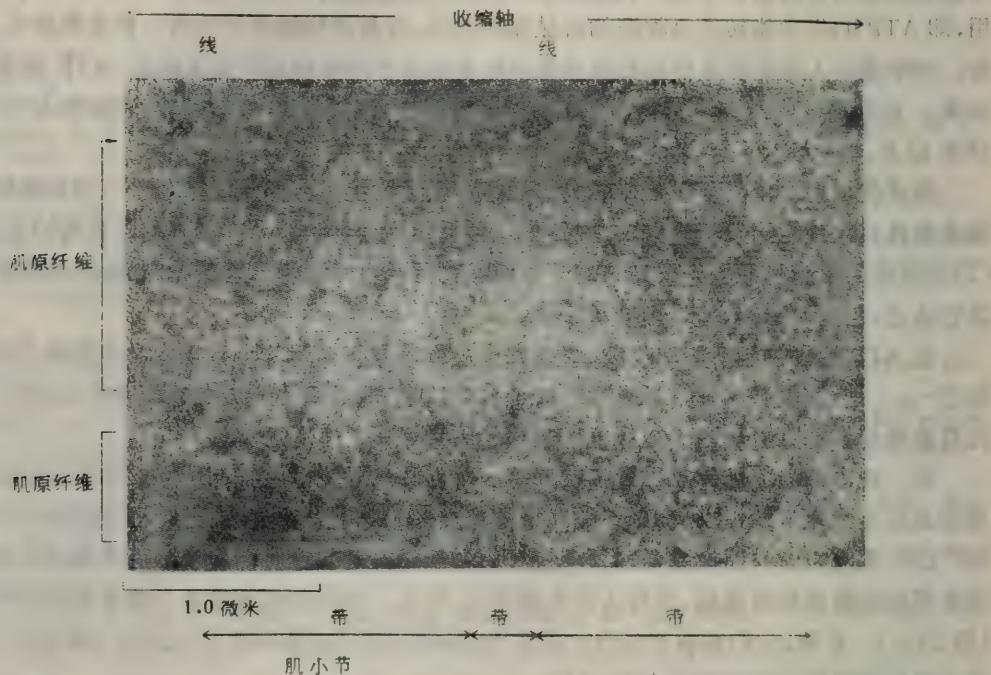
有许多可任意选择的额外东西，例如：当需要精细控制的地方，就有嵌入的伺服系统（长度和速度）。直接输送氧气。产生热量。等等。

很好吃。

图 27-1 D. R. Wilkie 教授在伦敦电机工程师协会所作的一次讲座的通知

骨骼肌的超微结构组织

骨骼肌的具有收缩性的细胞极长并多核。其原生质膜称为肌纤膜。肌细胞体积的大部分由其收缩成分——肌原纤维所占据。它们按收缩轴排列成平行束；每一肌原纤维包含许多肌微丝（图 27-2）。肌原纤维又由肌浆包围和浸浴。肌浆即肌肉的细胞内液，它包含糖原、糖酵解酶类以及中间产物、ATP、ADP、AMP、磷酸盐、磷酸肌酸、肌酸、无机电解



蛙肌在收缩状态下的纵切面，在两平行肌原纤维中显示特殊的横纹。



绿头苍蝇飞翔肌的原纤维横切面，显示出肌丝的六边形排列。

图 27-2 骨骼肌的电子显微镜照片

质以及一些氨基酸和肽类。在连续活动的需氧肌肉如鸟和昆虫的飞翔肌中，线粒体丰富并沿肌原纤维有规律的排列着，其位置比较固定。这种肌肉常称为红肌，因为它们的肌红蛋白和细胞色素含量都高。在白色骨骼肌如用得很少的鸡和火鸡的胸肌中，线粒体稀少且间隔不规则。肌细胞还含有高度分化的内质网，称为肌浆网，其结构和功能将介绍于后。

肌原纤维是一些细长的肌丝束，沿其长度显示出一种结构模式，每 2.5 微米左右重复一次（图 27-2 和图 27-3）。这些重复的单位称为肌小节，是肌原纤维的收缩单位。在骨骼肌或横纹肌中，许多平行肌原纤维的肌节都呈横向对齐排列，产生横过肌细胞的特殊的横纹，这些横纹是明和暗横带交替的结果。明带称为各向同性带或 I 带；暗带为各向异性带或 A 带。各向同性结构是不管从什么方向测量都具有一致的物理性质的那些结构，而在各向异性结构中，则物理性质决定于测量的方向。肌肉的 A 带是光学上各向异性的，即它们的折射率在各个方向是不一致的，因而赋与它们双折光性或双折射。通常，双折射是

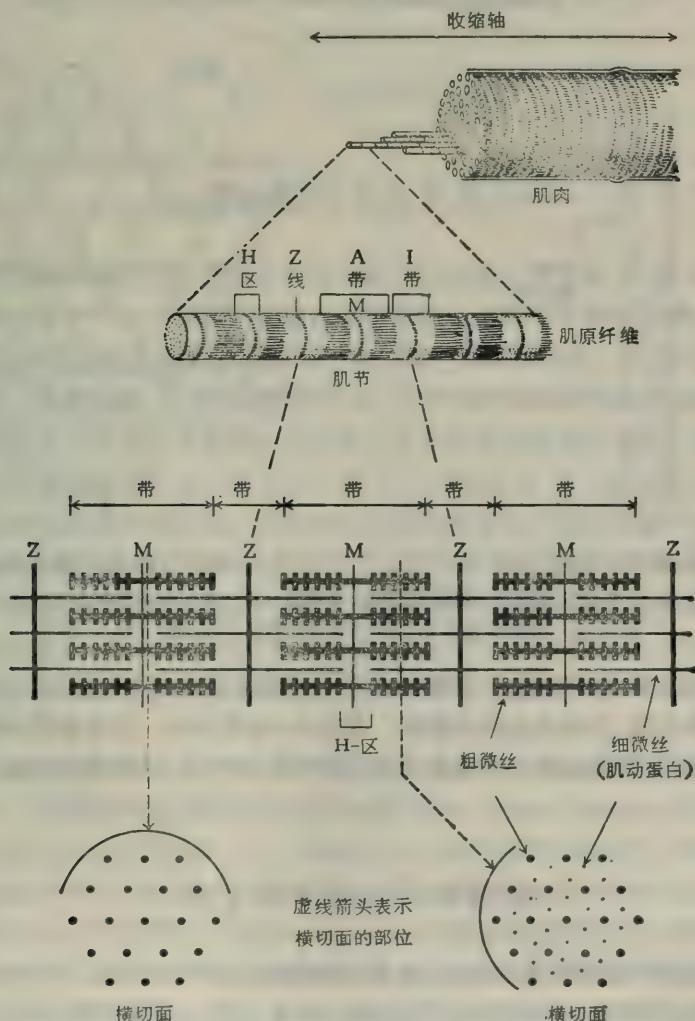
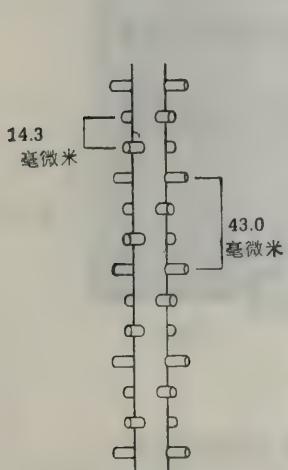


图 27-3 肌原纤维结构略图。（重新绘自 S. C. Keene and D. W. Fawcett, Textbook of Histology, 1968）

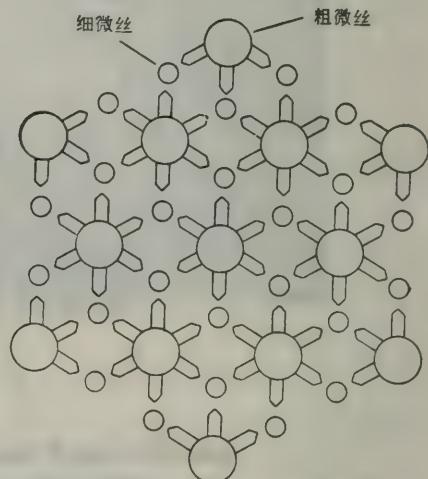
由分子成分不对称而在一个方向定位的固体表现出来的。

在静息肌肉中，暗 A 带沿收缩轴延伸，长约 1.6 微米；I 带长约 1.0 微米。横纹 I 被一厚约 80 毫微米的致密横线即 Z 线分为两等分。A 带的中央部分(0.5 微米)即 H 区没有此带的其他部分那样致密；也被一致密横线即 M 线分为两等分。肌小节这个纵的完整的重复单位从一条 Z 线延伸到另一条 Z 线。(图 27-2 和 27-3)

用电子显微镜更详细地检查，特别是 H. E. Huxley 和 J. Hanson 的检查，已经发现有粗的和细的两类肌丝(图 27-3)。在横的 I 带中，只有细的丝存在；它们的直径约为 6 毫微米。横的 A 带的致密部分不仅含有在 I 带中发现的那种细丝，而且还有排列整齐的粗丝(直径 15—17 毫微米，这些粗丝赋予 A 带其特有的双折射。在不同点所做的肌肉横切面已表明粗丝相隔约 45 毫微米，呈六边形排列。每一粗丝由六条细丝包围，也呈六边形排列(图 27-4)。粗丝从 A 带的一端连续地延伸到另一端。另一方面，细丝并非连续贯穿整个 A 带的：它们开始于 Z 线，连续地经过 I 带并延伸入 A 带。然而，它们终止于 A 带中心 H 区的边缘。由于细丝也呈纵向对齐排列，所以 H 区的边缘划界清晰。



一条粗丝上横桥的 6:2 螺旋状排列



横切面表示粗、细丝的超格子和横桥的排列

图 27-4 蛙缝匠肌粗丝上的横桥排列。此图是从低角度 X 射线图解演译而来。

[引自 H. E. Huxley and W. Brown, *J. Mol. Biol.* 30: 383 (1967)]

用高分辨率电子显微镜检查，观察到在 A 带的致密部分内，突起从粗丝延伸到邻近的细丝有规则地排列着；这些突起形成横桥。在约 43 毫微米的一段骨骼肌中有六个这种突起。它们排列成对，每对从前一对处旋转约 120°(图 27-4)。这些横桥乃粗、细丝之间的唯一结构联系。

收缩时肌小节中的变化

肌小节是肌原纤维的收缩单位，在其最大收缩时，各部分缩短约 20—50%。当肌肉被动地拉长时，肌小节可伸长达其静止时长度的 120% 左右。完整肌肉在松弛、收缩和拉长状态时，从 A 带和 I 带长度的精细显微测定，已证明 A 带因而也就是与肌肉的各向异性有

关的粗丝总是保持其长度不变。细丝长度同样也不改变。因此得出结论，认为肌肉长度的改变必然是由于粗细丝彼此相沿地滑动，以至于细丝切入粗丝区的程度有所变化（图 27-5）。当肌肉发生最大缩短时，细丝甚至可以滑动至相互重叠，在 H 区内形成一个新的更致密的中心带。这些观察提示，在这些丝彼此相沿滑动时，A 带的致密部分内，粗、细丝之间的横桥迅速地形成和破坏。

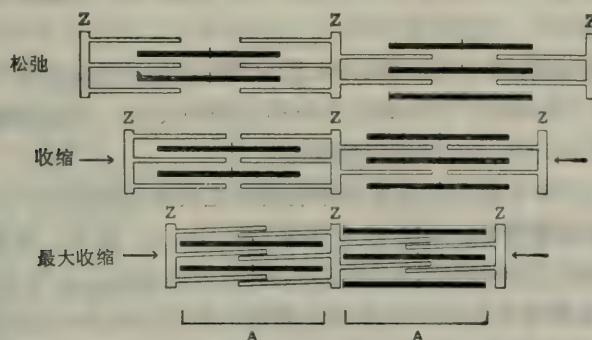


图 27-5 收缩时滑动丝的图解

肌细胞的蛋白质成分

骨骼肌细胞的细胞内蛋白质是由肌浆中构成肌肉蛋白质总量 20-25% 左右的水溶性蛋白质和肌原纤维的不溶于水的丝状蛋白质组成的。可溶性肌浆蛋白质用冷水易从肌肉提出；这一部分常称为肌浆蛋白。肌浆蛋白部分富于糖酵解酶类，从这部分可以分离出大量的下列酶类：如醛缩酶、甘油醛磷酸脱氢酶、甘油磷酸脱氢酶和磷酸化酶等。

业已证明肌丝的不溶于水的蛋白质更难于分离和获得纯净的形式。对肌肉收缩成分的现代生物化学研究是从廿世纪卅年代早期 J. T. Edsall 和 A. von Murralt 对肌肉蛋白质——肌球蛋白的经典研究开始的。用冷水提取首先除去兔骨骼肌肉糜中可溶性肌浆蛋白部分之后，他们发现剩下的不溶解的肌肉残渣中的大量蛋白质可用冷的 0.6M KCl 溶液在长时间提取中以可溶的形式除去之。这样提出的蛋白质通过稀释或透析提出物以降低 KCl 浓度能使它沉淀；沉淀的蛋白质可再溶解，即在 0.6M KCl 中盐溶。这部分不溶于水但溶解于 0.6M KCl 的蛋白质称为肌球蛋白；现已知道这一部分含有颇多的肌动蛋白，这点以后将会提及。

两方面的证据提示，称为肌球蛋白的部分是骨骼肌各向异性带的主要成分。首先 Edsall 和 von Murralt 证明肌球蛋白溶液具有流动双折光性 (double refraction of flow) 或流动双折射 (flow birefringence) 的性质。这一现象可由细长的高度不对称分子的溶液表现出来。当这种溶液未被搅动时，溶质分子方向紊乱；因而，所有方向的折射率相同。然而，当迫使这种溶液流经狭小的毛细管时，长的溶质分子本身按流动的方向定向，使溶液变为光学上的各向异性。以后，在用 0.6M KCl 提出肌球蛋白的前后，从显微镜检查完整肌肉纤维的外观得到了第二方面的证据，认为肌球蛋白是 A 带的主要成分。在提出肌球蛋白之后，A 带变得不太致密并失去其大部分各向性的特点。

1939 年 V. A. Engelhardt 及其妻 M. N. Lyubimova 在莫斯科发现，用 Edsall 的方法制备的肌球蛋白具有酶活性；在有 Ca^{2+} 存在时，肌球蛋白催化 ATP 的末端磷酸基的水解而生成 ADP 和无机磷酸。此后不久，他们证明如果将溶解在 0.6 M KCl 中的肌球蛋白溶液经一细小的皮下注射针头喷入冷蒸馏水中，则肌球蛋白便呈易碎的线状沉淀出来。当将 ATP 和 Ca^{2+} 加入浸浴这种人造肌球蛋白纤维的介质中时，其长度和伸展性发生显著变化；同时 ATP 发生水解。这些观察有力地支持下述观点，即肌球蛋白是 A 带的主要成分并参与需能收缩过程。

第二次世界大战时期，A. Szent-Györgyi 及其同事在匈牙利对肌原纤维的分子成分方面有许多新发现，大大地阐明了肌球蛋白与收缩过程的关系。特别是他们发现骨骼肌含有另一主要蛋白质成分，他们称它为肌动蛋白。

现已认识骨骼肌不溶于水的丝状成分中有两种主要蛋白质成分——肌球蛋白与肌动蛋白。它们构成收缩装置的蛋白质的 80% 左右（表 27-1）。此外，至少还有六种其它蛋白质成分即原肌球蛋白、肌钙蛋白、C-蛋白质、M-线蛋白质以及 α -和 β -肌动宁蛋白。除去肌浆蛋白部分之后，存在于肌丝中的两种主要蛋白质可以有选择地从肌肉中抽提出来。用冷碱性 0.6 M KCl 溶液可以从没有肌浆蛋白的肌肉残渣中抽出肌球蛋白。然后用丙酮干燥肌肉残渣，并用冷的微碱性水抽出肌动蛋白；获得的肌动蛋白呈球状，称 G-肌动蛋白。在较高温度下进一步提取残渣得到原肌球蛋白。

表 27-1 免骨骼肌丝的蛋白质成分

部 位	亚 基	分 子 量
粗丝		
肌球蛋白	两条重链，四条轻链	460,000
C-蛋白质		140,000
M-线蛋白质 I		155,000
M-线蛋白质 II		88,000
细丝		
F-肌动蛋白	nG- 肌动蛋白	(46,000) _n
原肌球蛋白	两条链	70,000
肌钙蛋白	三个亚基	80,000
α -肌动宁蛋白		100,000
β -肌动宁蛋白		70,000

肌 球 蛋 白

粗肌丝的主要成分肌球蛋白可以通过在 0.6 M KCl 中溶解，又用稀释或透析使之沉淀，为此循环而达到提纯。许多研究者对肌球蛋白作了充分的物理化学的研究，但是很长时间以来，对于其分子的大小、亚基成分和形状仍颇模糊和意见不一。这些困难部分是由于肌球蛋白

高度不对称的性质所引起，这种性质使肌球蛋白在诸如沉降和扩散等流体动力学测量方面与理想行为有本质的差异。加之肌球蛋白分子倾向于相互地并与其它肌丝蛋白质紧密结合。这一性质可能产生均一性的错觉。

对高度纯净的肌球蛋白的最新研究，明确地表明肌球蛋白分子量约为 460,000。如图 27-6 所示肌球蛋白分子为一含有一个球状头的长（~160 毫微米）不对称分子。它含有两条相同的约 200,000 道尔顿的长多肽链，称为重链，用浓尿素或浓胍溶液处理肌球蛋白可使它们分开。它们是生物中存在的已知最长的单条多肽链，每一条约有 1,800 氨基酸残基。它们的完整的氨基酸顺序尚未确定，其测定仍是一项巨大的工作。骨骼肌肌球蛋白含有三种不寻常的氨基酸，即 3-甲基组氨酸、 ϵ -N—甲基赖氨酸和 ϵ -N-三甲基赖氨酸（图 27-7），它们均位于肌球蛋白分子的头部。肌球蛋白的 170 个赖氨酸残基中只有 4 个和 35 个组氨酸残基中只有一个甲基化了的；大概它们在肌球蛋白头部的功能上起着某些特殊的

作用。

贯穿肌球蛋白分子大部分长度的,每一重链呈 α -螺旋构型,两条链互相缠绕(图 27-6)。两条重多肽链均盘折成球状结构形成头部。此外,头部含有四条较小的或轻多肽链。两条轻链是相同的,分子量约 18,000;它们可能含有磷酸化的丝氨酸残基,这取决于它们是如何被提取出来的。另两条轻链分子量为 16,000 和 21,000。因此,肌球蛋白含有 6 条多肽链,两条重的四条轻的。

高度纯化了的肌球蛋白制剂能够水解 ATP 的末端磷酸根;它们也作用于 GTP、ITP

和 CTP。肌球蛋白的 ATP 酶活性有以下几方面的特点:(1)它可由 Ca^{2+} 激发;(2)可由 Mg^{2+} 抑制;(3)受 KCl 浓度的影响极大和(4)有两个最适 pH,一个在 pH 6.0 而另一个在 pH 9.5。此外,肌球蛋白的 ATP 酶活性特异地决定于两类不同组的-SH 基,它们在对羟化作用或硫醇盐形成时的敏感性上不同,虽然它们在肌球蛋白分子中在位置上是颇为接近的。当较敏感的-SH 基被封闭时,肌球蛋白分子的

ATP 酶活性增加,意味着正常时这类-SH 基对酶有抑制性。而在封闭第二类-SH 基时,ATP 酶活性受到完全破坏,表示这些-SH 基是水解过程所必需的。

关于肌球蛋白的结构及其 ATP 酶活性的许多重要知识来自对肌球蛋白碎片的研究。当肌球蛋白短时间暴露于胰蛋白酶或糜蛋白酶时,则在接近尾部中心地方某专一肽键裂解,产生一个重的、一个轻的碎片,分别称为重酶解肌球蛋白和轻酶解肌球蛋白(图 27-6)。这些碎片已分离成纯化状态。它们也分别称为 $F_1 + F_2$ 和 F_3 。另一方面,当用木瓜蛋白酶处理肌球蛋白时,则产生不同类型的断裂。从头部产生两个碎片称为 SF_1 碎片和一个长碎片($F_2 + F_3$)相当于整个尾部。如果用胰蛋白酶进一步处理重酶解肌球蛋白($F_1 + F_2$),则 F_1 部分可以两个 SF_1 碎片的形式回收到,与用木瓜蛋白酶处理所获得的那些

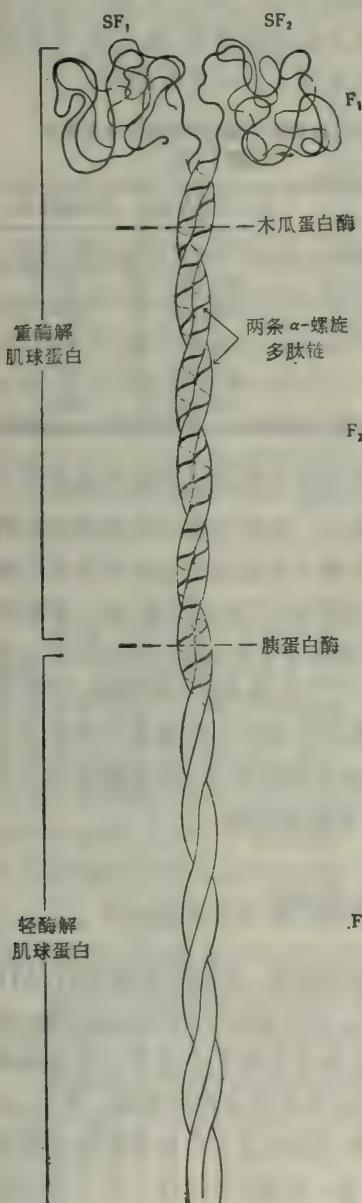


图 27-6 肌球蛋白分子略图,显示其球状头部和长尾以及酶促断裂点。

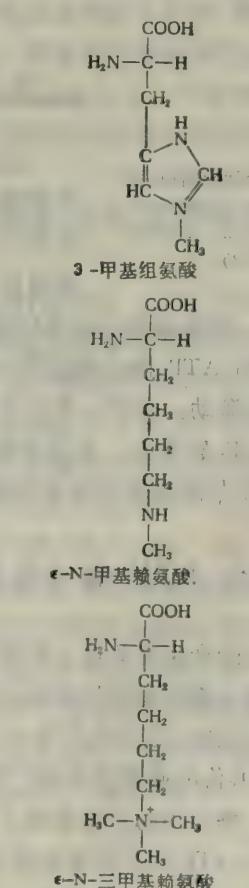


图 27-7 存在于肌球蛋白中的异常的氨基酸

碎片相同。所有这些碎片都已回收到并已纯化；它们的特性扼要列于表 27-2 中。特别有趣的是发现经过这些断裂处理后，肌球蛋白在 SF₁ 碎片上仍保持着 ATP 酶活性。因此得出结论，肌球蛋白分子的 ATP 酶活性完全存在于其头部，而且有两个催化部位，两个 SF₁ 碎片中每一个碎片各有一个。每一个 SF₁ 碎片含有一个抑制的和一个催化的-SH 基。肌球蛋白头部中的轻链关系到与 ATP 的结合以及 ATP 酶的活性。从肌球蛋白分子的头端可分离出一个能与 ATP 结合的八肽。认为这个八肽相当于 ATP 酶活性部位的一部分。此肽的氨基酸顺序已经推断出来；它含有半胱氨酸残基，这个半胱氨酸残基相信是表现 ATP

酶活性所需要的。图 27-8 表示 ATP 与这个肽结合的假想模型，在 ATP 分子和八肽之间表现出许多附着部位。

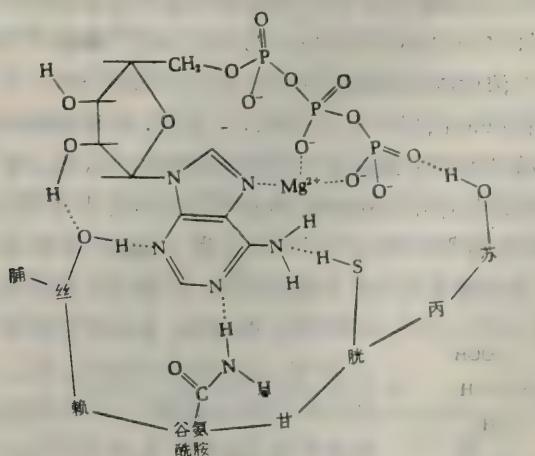


表 27-2 肌球蛋白酶促分裂所产生的碎片
(见图 27-6)

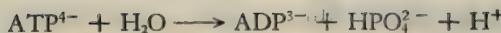
	粒子量道尔顿	长度毫微米
肌球蛋白	460,000	150—160
F ₁ + F ₂	350,000	75
F ₂ + F ₃	210,000	135
F ₂	61,000	46
F ₃	150,000	86
SF ₁	115,000	150

图 27-8 从肌球蛋白分离出来的 ATP 结合肽的结构，表示出这个肽是如何与 MgATP²⁻ 相结合的。[重绘自 G. Barany and R. B. Merrifield, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 37: 122(1972)]

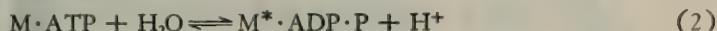
收缩机制中是非常关键性的步骤。当肌动蛋白结合到肌球蛋白上时，ATP 酶活性发生有趣而又重要的变化。纯肌球蛋白的 ATP 酶活性需要 Ca²⁺ 而却被 Mg²⁺ 所抑制，但肌动球蛋白的 ATP 酶活性则被 Mg²⁺ 所激动。此外，业已发现肌球蛋白与肌动蛋白结合的全部活性就位于具有 ATP 酶活性的 SF₁ 碎片中。从这样的实验得出结论，肌球蛋白分子头部上的两个 ATP 酶催化部位就位于与肌动蛋白结合的部位或其附近。

肌球蛋白 ATP 酶活性的机制

由于肌球蛋白水解 ATP 与力的产生有关这一明显的可能性，所以肌球蛋白的 ATP 酶活性已得到充分的研究。特别有兴趣的是在肌球蛋白起 ATP 酶活力时所形成的酶-底物复合物的性质。虽然常提出肌球蛋白分子由于与 ATP 相互作用而在某专一氨基酸残基上磷酸化了，但是对形成了一种共价的磷酸酶中间产物还没有结论性的证据。然而，动力学资料提示在肌球蛋白起 ATP 酶作用时可能形成三种不同的非共价性质的酶底物复合物。基本观察是当等克分子量的 ATP 和肌球蛋白混合时，游离的 H⁺ 在介质中很快出现，而游离磷酸和 ADP 的出现则慢得多。在 pH 接近 7.0 时，H⁺ 作为 ATP 的水解产物之一而产生：



由于在早期突然发作的 H^+ 形成过程中, 介质中未出现游离的 ADP 和磷酸, 因此得出结论在此时期它们仍与酶相结合, 大概成为肌球蛋白与其产物 ADP 和磷酸的复合物, 与所有酶作用时所形成的 EP (P 为产物) 复合物相似。此复合物的降解大概是肌球蛋白水解 ATP 过程中的限速步骤。然而, 业已发现简单地把肌球蛋白、ADP 和磷酸混合起来不可能形成这样一个缓慢分解的复合物, 提示至少形成了两个酶产物复合物, 它们不能迅速地相互转化。这个以及其他证据导致出一个假说, 即这两个酶产物复合物的构象不同。对肌球蛋白 ATP 酶活性的机制已提出各种假说。下列方程式 (M 为肌球蛋白, M^* 是肌球蛋白分子赋予了能的构象) 给予了简单的说明:



反应(2)就是引起 H^+ 早期迅速突然发作的反应。假定复合物 $M^* \cdot ADP \cdot P$ 为一高能量复合物, 其中 ATP 水解的自由能以肌球蛋白分子能量化的构象形式被保留。反应(3)是缓慢、限速反应, 在此反应中能量化的复合物发生分解, 释放出保存在 $M^* \cdot ADP \cdot P$ 构象中的能量, 产生低能复合物 $M \cdot ADP \cdot P$ 。后者再迅速分解产生在其基底状态的构象下的游离肌球蛋白。我们将在下面知道, 能量释放反应(3)与收缩时收缩力的发生有关, 收缩时利用肌球蛋白头部的构象变化使细肌动蛋白丝沿着粗肌球蛋白丝滑动。

粗肌丝的分子结构

根据详细的电子显微镜研究, 特别是由 H. E. Huxley 及其同事所进行的电子显微镜研究, 以及根据肌球蛋白及其自身结合的物理化学研究, 现在我们对兔骨骼肌 A 带的粗丝的分子机构有了一张详细图解。每一粗丝约 1,500 毫微米长, 10 毫微米粗。它是由纵的肌球蛋白分子束所构成。每一肌球蛋白分子长 160 毫微米。肌球蛋白分子的定向是以其头离开粗丝的中点。头部以有规则的螺旋形式向侧面突出到束外, 所以每 43.0 毫微米就有 6 个横桥, 代表一个轮迴或一个重复单位(图 27-4)。在任何一点上粗丝的横切面有 18 个肌球蛋白分子有规则地排列在一起(图 27-9)。每一完整的粗丝一共约有 400 肌球蛋白分子。肌球蛋白的头部, 与芒刺相似, 它们根据松弛或收缩的状态以不同的距离从粗丝突出; 在松弛的肌肉中它们和邻近细肌丝是分离的, 因而突出的距离最短。

图 27-10 是表示粗丝中肌球蛋白分子排列的图解; 特别有意义的是每一肌球蛋白的头部都位于分开邻近肌球蛋白分子 F_2 和 F_3 碎片的铰链样胰蛋白酶-敏感点的紧邻。

新近的研究揭示粗丝除肌球蛋白之外还包含两种其他的蛋白质。一种是通过精细的分级分离从肌球蛋白制剂分离出来的 C-蛋白质(表 27-1)。C-蛋白质(分子量 140,000)约构成粗丝总蛋白质的 3.5%。它是一个高度拉长了的分子, 与肌球蛋白尾部结合很牢。免疫化学和显微镜研究揭示 C-蛋白质分子长约 35 毫微米, 以有规则的间隔缠绕在粗丝的周围。C-蛋白质的机能不明, 一种意见认为它像一个夹子起着将肌球蛋白分子束组合在一起的作用。在粗丝中发现的另一蛋白质为 M-线蛋白质, 它也可能起着将肌球蛋白分子束

在 M-线(图27-3)上组合在一起的作用。

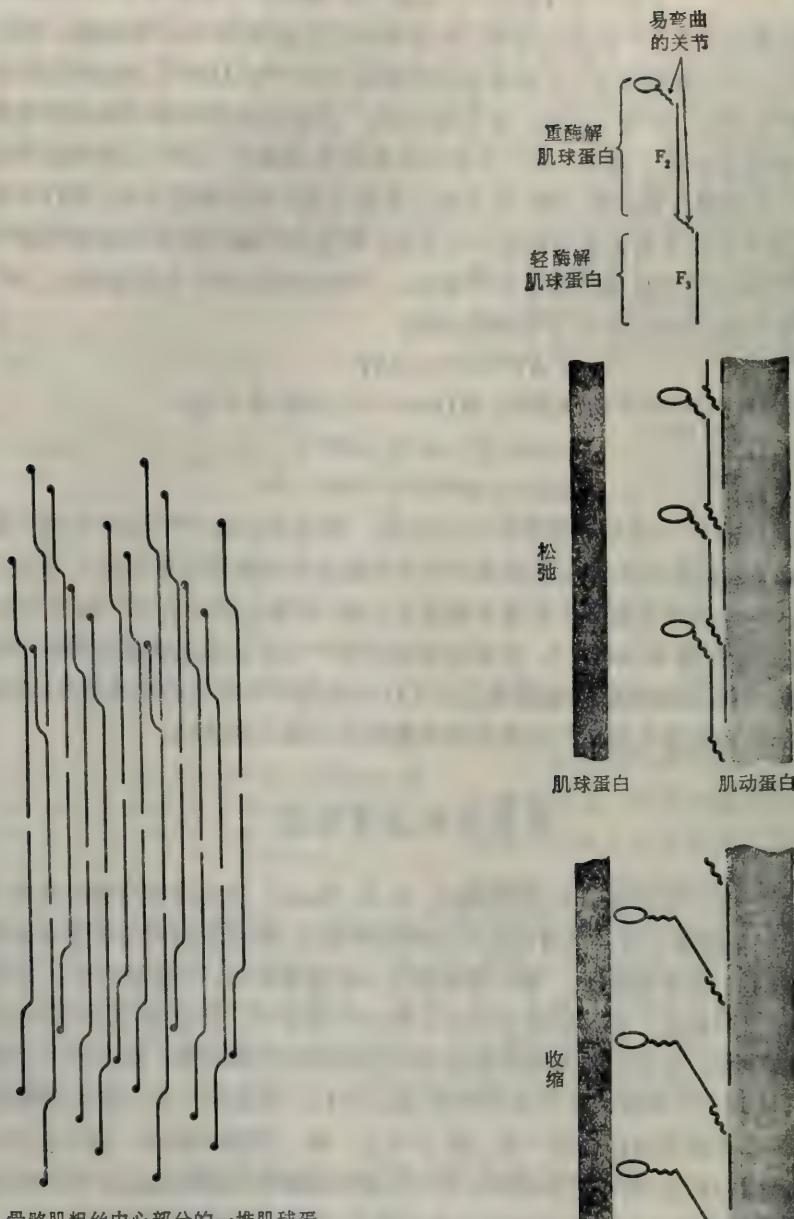


图 27-9 骨骼肌粗丝中心部分的一堆肌球蛋白分子分解图。这些肌球蛋白分子排列呈交错的形式，头部突出沿丝的长度（见图 27-4）有规律地排列在丝的周围。肌球蛋白分子头部定向是离开粗丝的中心点。[改绘自 P. Pepe, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 37: 106(1972)]

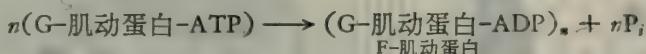
图 27-10 肌动蛋白与肌球蛋白丝之间横桥的形成。假定肌球蛋白分子在易于受蛋白酶分解的部位有易弯曲的关节。

肌 动 蛋 白

这种蛋白质以两种形式存在，即 G-肌动蛋白（球形肌动蛋白）和 G-肌动蛋白的聚合

体 F-肌动蛋白(纤维状肌动蛋白)。单体状 G-肌动蛋白在蒸馏水中是稳定的，但在某些情况下它聚合成 F-肌动蛋白。兔肌 G-肌动蛋白已被高度提纯。其分子量为 46,000，呈球状，由一条多肽链组成，已鉴定出其氨基酸顺序的大部分。G-肌动蛋白含有一个异常的氨基酸残基——3-甲基组氨酸，它也存在于肌球蛋白中(图 27-7)；G-肌动蛋白还含有很多的脯氨酸和半胱氨酸残基。

每一分子的 G-肌动蛋白与一个 Ca^{2+} 结合得非常牢固。它也以高度的亲和力与一分子 ATP 或 ADP 结合。通常 G-肌动蛋白与 ATP 结合后，随即就聚合成 F-肌动蛋白。每加一分子 G-肌动蛋白到 F-肌动蛋白链上，就有一分子 ATP 分裂为 ADP 和磷酸。这样形成的 ADP 仍然与 F-肌动蛋白链的 G-肌动蛋白亚基相结合。聚合作用以方程式表示如下：



细丝的分子结构

两股 F-肌动蛋白，每一股都是由 G-肌动蛋白单体所组成，在细丝中相互缠绕(图 27-11)。这样的两股状的螺旋平均直径为 6 毫微米，这和电子显微照片中所观察的肌肉的细丝的直径是一致的。细丝也含有两种主要辅助蛋白质，它们在控制粗细肌丝之间横桥的通断以及机械力的发生上起着调节作用。第一个是原肌球蛋白，构成肌肉收缩蛋白质总量的 10--11% 左右；它是在廿世纪四十年代首先由 K. Bailey 分离成结晶形的。兔肌的原肌球蛋白分子量约 70,000，含有两种不同的 α -螺旋多肽链，分子量各为 33,000 和 37,000，它们形成一条长约 40 毫微米的两链缠绕的螺旋。原肌球蛋白链的大多数氨基酸顺序已研究出来了。业已发现原肌球蛋白分子在结晶时头尾连接并形成方网晶格。

细长的原肌球蛋白分子头尾连接的排列在螺旋形的 F-肌动蛋白丝的浅沟中，通过这一方式每一原肌球蛋白分子只和两条 F-肌动蛋白丝中的一条相接触(图 27-12)。每一原肌球蛋白分子沿着七个 G-肌动蛋白单体延伸。如我们将要看到的，原肌球蛋白分子位置并不固定而且显然能够沿着两股 F-肌动蛋白之间的沟移动。

存在于细丝中的第二个主要调节蛋白质为肌钙蛋白，这是在 1965 年由日本生物化学家 S. Ebashi 及其同事所发现的一种大的球蛋白。肌钙蛋白含有三个多肽亚基，每一个亚基有其特殊功能，曾给以不同的符号和名称。肌钙蛋白的 Ca^{2+} 结合亚基用符号 TN-C 表示，但亦称肌钙蛋白 A，分子量为 18,000。每一分子 TN-C 与两个 Ca^{2+} 紧密结合；与此同时 TN-C 分子发生构象变化。肌钙蛋白的抑制亚基用符号 TN-I 表示，分子量为 23,000。它有一个与肌动蛋白结合的专一部位，但不与 Ca^{2+} 结合。其作用是抑制肌动蛋白与肌球蛋白头部横桥的相互作用。特别有兴趣的是 TN-I 亚基可被磷酸化酶激酶磷酸化，此激酶在正常情况下激活磷酸化酶 b 使成为具有活性的



图 27-11 细丝中的 F-肌动蛋白股，
每股由 G-肌动蛋白单体组成，两股互相盘绕。

磷酸化酶 a。肌钙蛋白的第三个成分 TN-T 是原肌球蛋白-结合亚基。完整的肌钙蛋白分子呈球形，含有 TN-C、TN-I 和 TN-T 等亚基各一个。

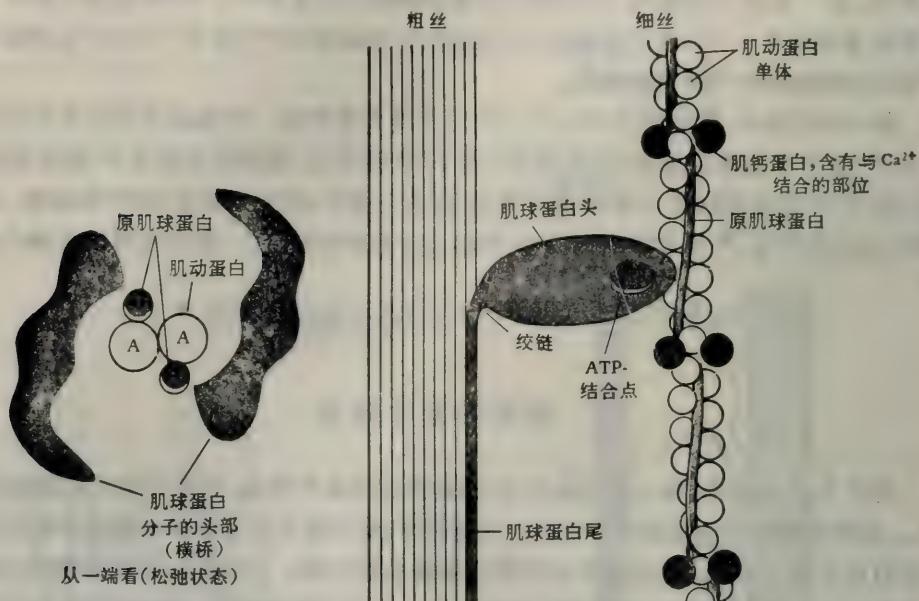


图 27-12 细丝中原肌球蛋白和肌钙蛋白分子的排列及其与肌球蛋白头部的关系。从一端来看(左)，显示出细丝的横断面，有两股肌动蛋白和附着于其上的原肌球蛋白股。同时也显示出邻接细丝的粗丝上两个肌球蛋白分子的头部 [引自 H. E. Huxley, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 37:361~376 (1972)]。从侧面来看(右)显示出一条细丝，每七个或将近每七个 G-肌动蛋白单体就有一个肌钙蛋白分子。当肌钙蛋白与 Ca^{2+} 结合时，它显然通过原肌球蛋白的构象变化激活七个肌动蛋白单体的一段，所以 ATP 成功地与肌动蛋白单体竞争肌球蛋白头部上的结合点。

每一肌钙蛋白分子通过两个结合点附着在细丝上，一个是专门为肌动蛋白股的，另一则是为原肌球蛋白股的。与原肌球蛋白的结合显然是在固定的位置上，而与肌动蛋白丝的结合则取决于与 Ca^{2+} 的结合而发生时通时断。沿着细丝每 40 毫微米就有一个肌钙蛋白分子；这种周期性与沟中原肌球蛋白分子的重现大约相同。因此，每 7 个 G-肌动蛋白单体就有一分子原肌球蛋白和一个肌钙蛋白。(图 27-12)

肌动球蛋白复合物

当纯净的肌球蛋白和肌动蛋白混合时，就形成肌动球蛋白复合物。它们的形成伴有粘度和流动双折射的巨大增加。肌球蛋白与肌动蛋白的比率以及这种肌动球蛋白复合物的粒子量取决于实验的条件，如 pH、KCl 和 MgCl_2 的浓度以及蛋白质的浓度。肌动球蛋白复合物也可从肌肉通过长时间暴露于 0.6 M KCl 而提取之。在肌动球蛋白复合物中，G-肌动蛋白单体与肌球蛋白的克分子比率可以高达 1.7。由于一条 F-肌动蛋白链包含许多个 G-肌动蛋白单体，所以每一 F-肌动蛋白丝可以与许多肌球蛋白分子结合。电子显微镜检查不仅证实这一化学计算法，而且还揭示只是肌球蛋白分子的头部与肌动蛋白丝结合，所生成的结构类似于芒刺。(图 27-13)

肌动球蛋白复合物的一个重要特性是在 ATP 和 Mg^{2+} 存在下发生解离，这一解离伴随着肌动球蛋白溶液粘度大而迅速的下降。继肌动球蛋白解离后，ATP 发生水解（图 27-14）。当 ATP 完全水解为 ADP 时，肌动蛋白与肌球蛋白就再聚合。我们将看到，肌原纤维粗细丝之间横桥的断离和接通是由于肌动蛋白与肌球蛋白的解离和再结合。

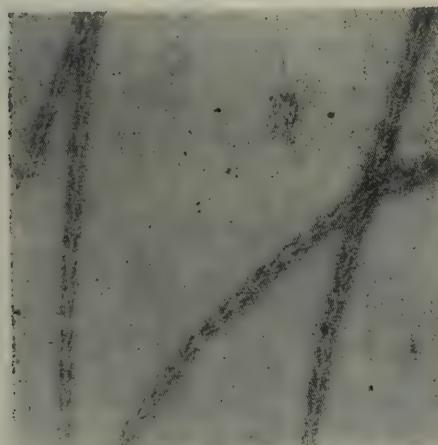


图 27-13 附着有肌球蛋白分子芒刺样头部的肌动蛋白丝。[引自 J. A. Spudich, H. E. Huxley, and J. T. Finch, *J. Mol. Biol.*, 72: plate X(c)(1972)]

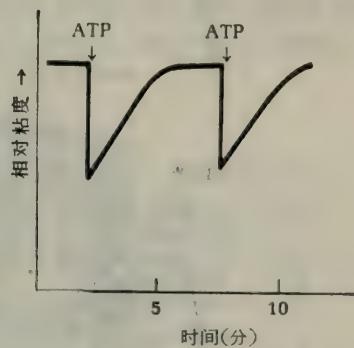


图 27-14 在有 Mg^{2+} 存在时肌动球蛋白由 ATP 所解离，伴随着解离肌动球蛋白溶液的粘度迅速降低，当 ATP 脱磷酸时，肌动蛋白和肌球蛋白再结合，粘度增加。

由 Ca^{2+} 触发粗丝-细丝的相互作用以及力的产生

现在我们将上面所得到的知识集中起来，并检查一下粗细丝之间横桥的周期性接通与断离的分子机制、撬动，(power stroke)，以及肌浆中 Ca^{2+} 浓度调节收缩的近代观点。

骨骼肌处于松弛状态时，肌浆中 $MgATP^2-$ 浓度高，而 Ca^{2+} 浓度则低于引起收缩所需要的阈值。在粗细丝之间证明无横桥；肌球蛋白的头部处于回缩的位置。在这种状态中每一肌球蛋白头部含有两分子紧密结合的 ATP。然而，如前面指出的，ATP 可能不是以这种形式存在，而是以 ADP 和磷酸的形式并紧密地与肌球蛋白头部获得了能量的构象相结合。肌肉的肌球蛋白头部在这种状态下不能与细丝的肌动蛋白起反应，因为在缺乏 Ca^{2+} 的情况下，原肌球蛋白分子掩蔽了 G-肌动蛋白单体上与肌球蛋白结合的位点，或通过肌钙蛋白的 TN-I 亚基的作用使 G-肌动蛋白单体保持于一种无反应的构象。一个原肌球蛋白分子能抑制七个 G-肌动蛋白单体与肌球蛋白结合的活性。

由于传入的神经信号使游离 Ca^{2+} 释放入肌浆时， Ca^{2+} 立即结合于肌钙蛋白的 Ca^{2+} 结合点上。通过肌钙蛋白分子的构象改变，G-肌动蛋白单体上的肌球蛋白结合点现在暴露出来，并与获得了能量的结合有 ADP 和磷酸的肌球蛋白头部相结合，形成力量发生复合体，在这个复合体中肌球蛋白头部附着于 G-肌动蛋白单体上。

现认为肌球蛋白头部发生了一个产生能量的构象变化，所以横桥改变其与粗丝轴的角度关系，引起细丝沿着粗丝运动，这就是撬动（图 27-15）。同时，肌球蛋白头部从其获得了能量的构象回复到去能的构象，而结合的 ADP 和磷酸离开它在肌球蛋白上的结合

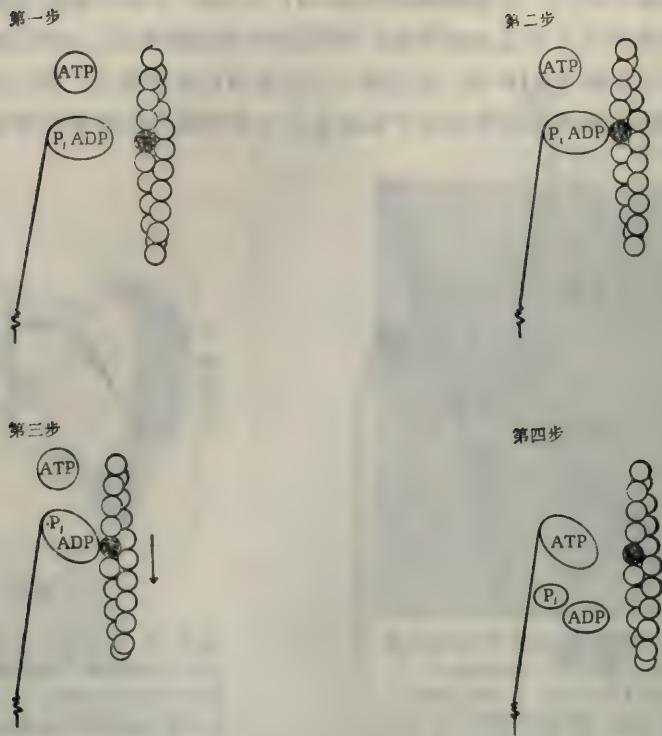


图 27-15 肌球蛋白横桥的摆动。获得了能量的肌球蛋白头部含有紧密结合的 ADP 和 P_i (第 1 步), 在肌钙蛋白由 Ca^{2+} 激活时即与一个肌动蛋白单体接触 (第 2 步)。继此之后发生构象变化以致肌球蛋白头部与尾部假设呈 45° 角 (第 3 步)。释放出结合的 ADP 和 P_i 而代之以 ATP (第 4 步)。ATP 分解生成结合的 ADP 和 P_i , 引起头部回复到 90° 的构形, 准备着与另一肌动蛋白单体相互作用。[取自 H. G. Mannherz, J. B. Leigh, K. C. Holmes, and G. Rosenbaum, *Nature New Biol.*, 241: 226(1973)]

点。最终每一横桥有两个 ATP 分子水解。

对摆动的机制提出了另一假说。注意(图 27-10)每一肌球蛋白头部是与其邻近的肌球蛋白分子的灵活铰链是很靠近的。假定 ATP 被肌球蛋白头部所水解, 这在 pH 7 时将引起 H^+ 的形成, 导致铰链周围局部酸化而使之发生构象变化, 这可能是一个依赖于 pH 的从 α -螺旋结构到无规则构象的转换。就这样 ATP 水解的能量设想传递到铰链, 因此产生摆动。关于利用 ATP 能量以产生力的问题的其他方面知道得很少。不管什么机制, 在粗、细丝的各种蛋白质成分之间, 似乎有许多复杂的协同的相互作用存在。

肌肉的松弛是由于将离子 Ca^{2+} 从肌浆重新隔离入肌浆网而引起的。

兴奋-收缩偶联

收缩是如何由传入的神经冲动所触发或发动的? 收缩的肌肉如何再松弛? 肌肉收缩的刺激是从运动神经到达运动终板或神经肌肉接头的一种电冲动。这种冲动迅速传遍肌纤膜。肌肉在静息状态下, 肌纤膜两侧有电位差, 膜外比膜内约正 60 mV。当兴奋冲动在肌纤膜上传播时, 这种电位差消失, 这一现象称为去极化。有人认为去极化是由于对 K^+ 、

Na^+ 和 Ca^{2+} 的通透性突然增加, 这些离子向引起跨膜电位的放电的方向流动。

在肌纤膜上迅速传播冲动的机制立即传达到肌细胞的内部, 约 $50\mu\text{M}$ 深, 因而肌纤维的所有肌丝同时发生收缩, 这一机制是肌肉生理学中经典问题之一。由于扩散作用太慢不足以说明兴奋过程的高速率, 因此化学试剂或信息从肌纤膜简单的扩散到内部肌丝似乎不可能作为传递的手段。用电子显微镜所做的研究终于得出了这个问题的答案。肌肉超微结构的精密检查揭示了肌纤膜或肌细胞膜有许多重复的小管状凹陷。在某些肌肉中这些小管状结构在靠近肌原纤维的 Z 线处横过肌细胞, 而在另一些肌肉中则在靠近 A-I 接合处横过肌细胞。这一复杂的横向的小管系统称为 T 系统(图 27-16)。当肌纤膜由传入的冲动所兴奋而发生去极化时, T 系统几乎同时地将电冲动传到肌纤维的所有肌小节。

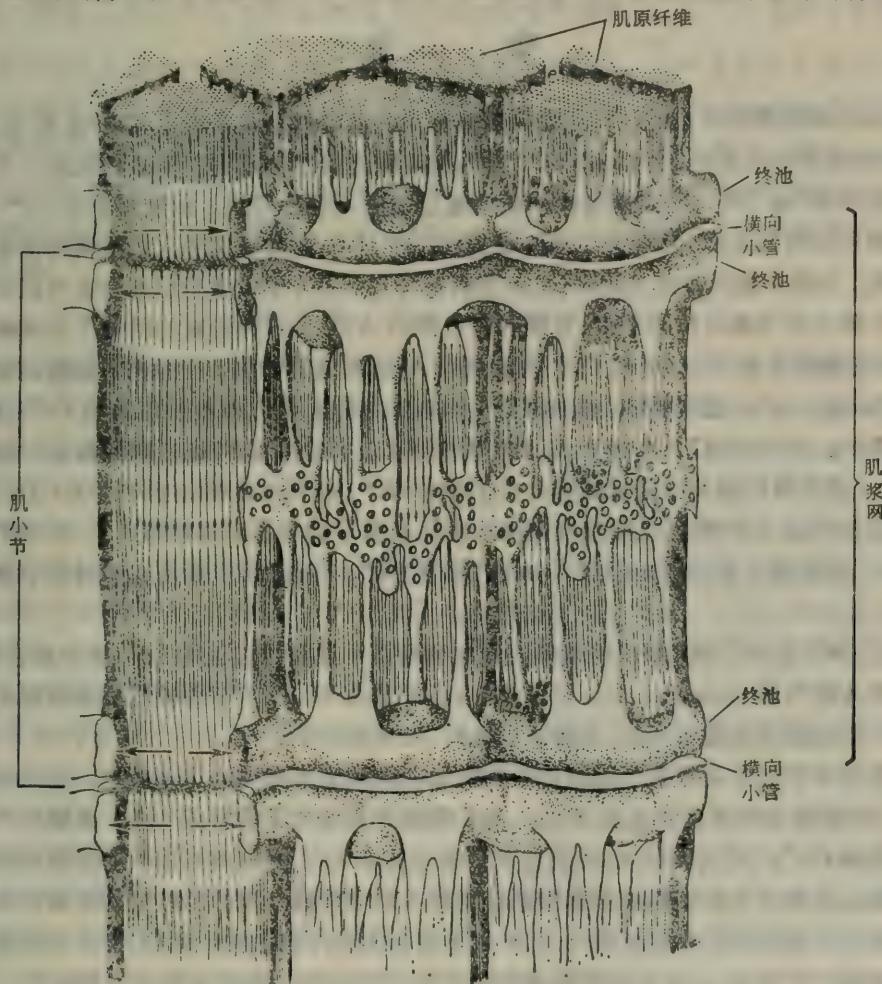


图 27-16 肌浆网终池用箭头表示。[重绘自 L. D. Peachey, *J. Cell. Biol.*, 25 (3, II): 222 (1965)]

通过相关的电子显微镜和生物化学研究, 揭示了 T 系统去极化作用触发收缩的分子变化机制。围绕肌原纤维中每一组邻近肌小节, 有一扁平多孔的双层膜质囊, 象镶了花边的袖口或袖子。在蛙和哺乳动物的肌肉中, 每一囊从一个肌小节的 A-I 接合点延伸到下一个肌小节的 A-I 接合点(图 27-16)。囊的整个袖状系统称为肌浆网, 它是一种特化的内质网。每一囊的内隔室或内池通过横向连接管道和所有其他隔室或池在同一横纹水平

上连接起来，这种横向管道称为终池。成对的平行终池横过肌原纤维和T系统的横向小管密切接触(图27-16)。当肌纤膜兴奋时，T系统便去极化，这个变化传到紧密附着的肌浆网的膜上，引起其通透性增加。结果静息肌肉里在正常情况下被隔离在池内的 Ca^{2+} 将从肌浆网池内逸出。如上所述， Ca^{2+} 极迅速地从肌浆网释放入肌浆触发了粗细肌丝之间的相互作用，引起ATP的水解。在静息肌细胞中，由于 Mg^{2+} 的抑制性浓度，由肌球蛋白水解ATP的作用只能很慢地发生。在有活性浓度的 Ca^{2+} (约 $10\mu\text{M}$)存在时，横桥作用于肌动蛋白，解除了上述抑制。松弛骨骼肌肌浆中的 Ca^{2+} 浓度被认为少于 $0.2\mu\text{M}$ 。只要运动神经冲动继续到达肌纤膜， Ca^{2+} 便保留在肌浆内并且保持肌肉于收缩状态。

松 弛

当运动神经冲动停止时，肌纤膜恢复其原来的通透性型式并恢复其原来的极化状态，此时细胞膜外较膜内正约 60 mV 。同样，肌浆网的膜亦恢复到其原来的状态。然后存在于肌浆中的 Ca^{2+} 在一个需能过程中被输送过膜进入肌浆网池，致使肌浆中 Ca^{2+} 浓度达到其静息时的低浓度。用生物化学方法直接研究了 Ca^{2+} 从肌浆进入肌浆网的需能主动转运过程。当将骨骼肌做成匀浆时，肌浆网断裂为封闭的小囊。用差示离心法可以容易地把这些小囊分离为微粒体部分。已发现在有过剩的ATP和一种配对的阴离子如磷酸盐存在时，通过膜内依赖于-ATP的 Ca^{2+} 泵或主动-转运系统的作用，这种囊的混悬液很迅速地蓄聚加入的 Ca^{2+} 。这个系统消耗ATP水解的自由能逆 Ca^{2+} 浓度梯度地将 Ca^{2+} 从介质转运入囊中。每分子ATP水解为ADP和磷酸时，就有2个 Ca^{2+} 离子和磷酸基一起蓄聚在囊内。这种囊的制剂可以从周围介质中除去 Ca^{2+} ，使其浓度降低到少于 $0.1\mu\text{M}$ 。受 Ca^{2+} 激活的转运ATP酶已从肌浆网中提取出并获得了纯净的可溶性形式。其分子量约100,000，构成膜总蛋白的大部分。ATP酶分子在ATP的 Ca^{2+} 激活水解过程中被磷酸化。

除了 Ca^{2+} 泵ATP酶以外，肌浆网的膜还含有两个或两个以上的 Ca^{2+} 结合蛋白质，其中之一称为隐钙素(calsequestrin)，已被提纯，分子量为44,000。有些被肌浆网隔离的 Ca^{2+} 显然是与这些膜蛋白质结合的，当膜去极化时，再释放出来。

新近的研究提示某些富于线粒体的肌肉如心肌和某些鸟类的飞翔肌里，在松弛过程中， Ca^{2+} 的隔离在线粒体内也能发生。它们能够消耗由电子转移或ATP水解所产生的能量以蓄聚 Ca^{2+} 。在这种肌肉中，肌浆网和线粒体在 Ca^{2+} 的隔离作用中可能协同作用。

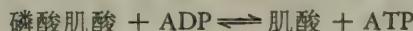
根据以上考虑推断肌肉收缩和松弛都需要ATP的能量。我们已经看到收缩时每激活一个横桥至少要有两个或多至四个ATP分子结合上去并被水解。此外，许多证据提示到为了激活每一个横桥，从肌浆网所释放的两个 Ca^{2+} 必须与细丝的肌钙蛋白相结合。由于要将两个 Ca^{2+} 隔离在肌浆网池内以使肌肉松弛时需要一分子ATP，这个数据提示单个收缩-松弛周期用去的ATP中，收缩时至少需要三分之二，而松弛时可达三分之一。

肌肉收缩的能源

脊椎动物离体肌肉可以用电刺激使之重复收缩。且立即形成大量乳酸，肌肉中糖原

含量减少。这些观察表明糖酵解能为肌肉收缩提供能量。然而，在二十世纪三十年代 E. Lundsgaard 的经典实验揭示，如果首先用糖酵解的某些抑制剂如碘乙酸处理肌肉，由于它抑制甘油醛磷酸-脱氢酶，故当刺激时肌肉仍然收缩，但无乳酸形成，表示糖酵解本身对收缩不是必需的。同样，也可以用氰化物抑制肌肉的呼吸使肌肉中毒但并不阻碍当其受刺激时收缩的能力。从这样一些实验得出结论：肌肉含有富-能物质，在没有产能的糖酵解或呼吸作用的情况下，它们至少可以在一个短时期供给收缩所需要的能量。

首先假定糖酵解受抑制时，早几年在肌肉提取物中发现的 ATP 可提供肌肉收缩的能量。然而，由于两个理由这个解释显然不够充分：(1) 肌肉在糖酵解被碘醋酸抑制之后，仍可进行收缩，但肌肉中发现的 ATP 量只能供给收缩所需能的 $\frac{1}{5}$ ；(2) 在单个收缩的前后，仔细分析肌肉的 ATP 含量，表明 ATP 含量基本上不减少，ADP 含量亦未增加。因此，这些实验提示 ATP 可能不是收缩的直接能源。然而，从考虑高能化合物磷酸肌酸的功用后终于得出了这个难题的答案。磷酸肌酸是在 1927 年由 C. Fiske 和 Y. Subbarow 发现的，它在肌肉中的浓度约为 ATP 浓度的五倍。通过存在于肌浆中的肌酸激酶的作用，其高能磷酸基很迅速地转移到 ADP。在肌浆的 pH 约为 6.0 的情况下，肌酸激酶的平衡大大向右，即

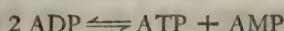


消耗磷酸肌酸以促进 ATP 的形成。因此，这一事实说明为什么当单个收缩时肌肉中的 ATP 浓度不下降：收缩过程中从 ATP 失去的末端磷酸基立即由消耗磷酸肌酸而得到补充。如果在没有糖酵解或呼吸作用时，充分长时间地刺激肌肉，则磷酸肌酸供应终将枯竭。只有在此时 ATP 浓度才会下降。然而，多年来一直未能直接证明 ATP 是完整肌肉的直接能源而不是磷酸肌酸。最后由 R. E. Davies 提供了这个直接证据，他证明用 Sanger 试剂，即 2,4-二硝基氟苯处理肌肉，完整肌肉的肌酸激酶活性可以完全被抑制。大概是由于酶的一个必需功能基团被 2,4-二硝基苯基所置换而使酶失活。在以这种方式使之中毒的肌肉中，Davies 发现假若 ATP 是直接能源而且肌酸激酶受抑制，则正如所料肌肉在受刺激时 ATP 迅速下降而磷酸肌酸保持不变。

ADP 的再磷酸化以及因而磷酸肌酸的再磷酸化所需的代谢能的最终来源，并非所有肌肉都一样。虽然，脊椎动物的所有肌肉都具有糖酵解和呼吸作用活力，但对于从 ADP 再生成 ATP 所作的相对贡献来说，它们都有很大差别。有两类主要的骨骼肌纤维，即红或慢肌纤维以及白或快肌纤维。在红肌中，其颜色全靠它们的肌红蛋白和细胞色素含量高，呼吸作用成为 ADP 经氧化磷酸化作用而再磷酸化的主要能源。这种肌肉有丰富的线粒体，包括心肌和鸟类敏捷的飞翔肌。红肌收缩较白肌为慢，且正常地在有规则的周期性循环中起作用。另一方面，白肌含有少量线粒体而没有多少肌红蛋白；在这种肌肉中糖酵解是 ADP 再磷酸化的主要能源。蛙的跳跃肌是快速收缩白肌的一个例子。有些肌肉既含有红肌纤维又含有白肌纤维。一般，红肌使用脂肪酸作为其主要燃料，它们通过脂肪酸氧化循环将脂肪酸氧化为乙酰辅酶 A；后者经三羧酸循环氧化为 CO₂。另一方面，白肌则以葡萄糖为主要燃料。

糖酵解和呼吸作用的速率，以及因此 ATP 的生产率，是根据肌肉中 ATP 的消耗率通过一系列的反馈控制来调节的。在静息肌肉中 [ATP]/[ADP] [P_i] 的比率高；在这些情

况下糖酵解和三羧酸循环的速率低,因为它们受负调节剂 ATP 的别构抑制。当刺激肌肉使之进行最大活动时, $[ATP]/[ADP][P_i]$ 比率开始时大大下降,结果燃料和氧的消耗率大大增加。从静息转变为最大活动时,哺乳动物骨骼肌的氧摄取量可增加廿倍或更多倍;家蝇在起飞时氧的消耗可以增加一百倍。当肌肉收缩时,呼吸作用的突然增加是由于 ATP 突然分解为 ADP 和 P_i 的结果,这种状态刺激了糖酵解和三羧酸循环而 ADP 对糖酵解和三羧酸循环两者都是阳性调节剂。收缩时所形成的某些 ADP 通过腺苷酸激酶反应也可转变成 AMP:



这样形成的 AMP 也刺激糖酵解,因为它对磷酸果糖激酶是一个强阳性调节剂。

在最大的肌肉活动,例如短距离赛跑的时期以后(在赛跑时血液中大量出现乳酸),动物继续以超过正常静息状态的速率进行呼吸,并消耗大量额外的氧。在恢复期中这样消耗掉的额外氧称为氧债,相当于在最大肌肉活动时形成的部分或全部过剩乳酸的氧化。在血液中所蓄聚的一些过剩乳酸通过第二十三章中介绍的一些途径可以在肝内转变为糖原。

特殊化了的肌肉: 异步肌和“捕”肌

脊椎动物三类主要肌肉即骨骼肌、心脏肌和平滑肌都含有肌动蛋白和肌球蛋白丝,虽然在这些肌丝的分子构成的成分和大小上以及在肌纤维中肌丝的超微结构排列上都有某

些不同,但这三种肌肉都使用了同一套基本的分子相互作用,这已在本章的前面述及。然而,在无脊椎动物中有两类高度分化了的肌肉,由于它们在生物化学上突出的分化而值得特别评述。大多数肌肉每接受一个神经冲动产生一次单收缩;它们称为同步肌。然而,在那些高频率鼓翅的昆虫,例如家蝇、黄蜂和蚊子中,其飞翔肌是异步的,因为单个神经冲动引起一阵或一连串的收缩。蝶的收缩频率可超过每秒 1,000 次。虽然这些昆虫的异步肌确实含有一个 T-系统,但它们只有很少或没有肌浆网。这些事实提示,隔离和释放 Ca^{2+} 的方法与脊椎动物骨骼肌中所发现的那样将 Ca^{2+} 主动转运入肌浆网和从肌浆网释放出来的方法不同。这些昆虫的飞翔肌包含两组对抗的纤维,交替收缩,一组用来向下鼓翅,一组用来向上鼓翅。近年来的研究提示一组纤维的收缩牵动另一组,因而使它受到刺激而收缩。异步肌一旦由单个神经冲动所发动,其活动将是自身-持续的多次收缩。

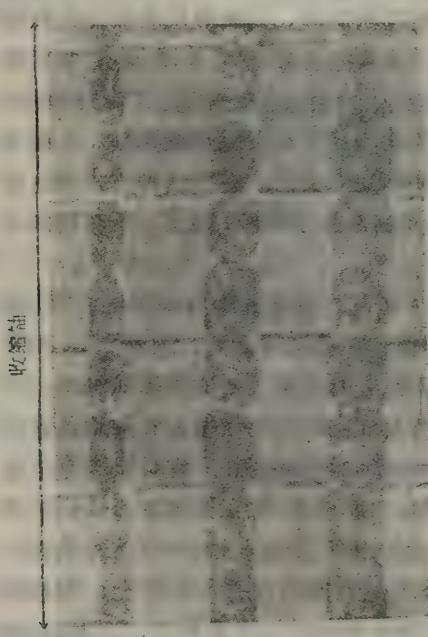


图 27-17 黄蜂 (*Polistes*) 异步飞翔肌的纵切面,显示线粒体沿肌小节整齐地排列。

昆虫的异步飞翔肌的呼吸活动强也是很突出的,它们或许是已知的呼吸最强烈的真核细胞。在这些肌肉中,线粒体都很丰富,并沿着肌原纤维整齐地排列着,所以随着种类

的不同，每一肌小节都有一或二个线粒体（图 27-17）。这些线粒体的内膜具有一个巨大的表面积。

软体动物像蛤蜊或扇贝的“捕”肌或闭壳肌也是特别有趣的，因为它们在刺激终了之后能够长时间地保持关闭于收缩状态而并不比松弛状态消耗更多的代谢能量。捕肌含有肌动蛋白和肌球蛋白排列成细和粗丝的形式，虽然后者通常较脊椎动物骨骼肌的粗些。捕肌的粗丝特殊地含有 20—50% 的不溶于水的丝状蛋白质副肌球蛋白（分子量 117,000），它形成粗丝的核心，肌球蛋白分子层绕在其周围。然而现在还不知道捕肌中横桥如何固定在位置上，现有证据提示在捕捉机制的调节中涉及到 Ca^{2+} 和肌钙蛋白系统。

细胞内肌纤维以外的收缩蛋白

最近的研究揭示在肌肉之外的许多细胞和组织都有肌动蛋白和肌球蛋白存在。在这些细胞中，肌动蛋白和肌球蛋白参与细胞质中的局部收缩变化、运动活动和细胞聚合现象。一个特别有趣的例子是变形虫的运动机制。E. D. Korn 及其同事从 *Acanthamoeba castellani* 中已经分离出一种肌动蛋白样蛋白质。这种蛋白质与骨骼肌的肌动蛋白非常相似，两者都含有 3-甲基组氨酸残基。变形虫肌动蛋白形成双螺旋状丝体，类似于哺乳动物骨骼肌的 F-肌动蛋白或细丝。此外，它也能与兔肌的肌球蛋白结合形成杂种的肌动球蛋白复合物。从进化的观点来看，也许最突出的发现是从 *Acanthamoeba* 中分离出来的肌动蛋白的氨基酸组成和兔肌的肌动蛋白的非常相似，这表明这些差异很大的物种的肌动蛋白有一个共同的祖先，而且在它们的氨基酸的组成上发生的进化变化很少，甚至比不同物种的细胞色素 c 所发生的变化还更不明显些。这种突出的发现提示肌动蛋白可能存在于所有的真核动物细胞中。

Acanthamoeba 也含有一种类似于肌球蛋白的蛋白质；它有 ATP 酶活性以及与肌动蛋白结合的活性。然而，它的分子量较小，约 200,000，不能联合形成粗丝。显然肌动蛋白是在细胞运动和伪足形成上起作用。*A. castellani* 的肌动蛋白丝的一端附着于细胞膜的内表面上，而与肌动蛋白结合的 ATP 酶则延伸入细胞质中去。大概它们的相互作用产生一种切变力，引起细胞质的流动，因此而产生变形运动。

粘菌 (*Physarum polycephalum*) 也含有肌动蛋白，与骨骼肌中的肌动蛋白非常相似，以及一种可溶性具有 ATP 酶活性的肌球蛋白样的蛋白质，它与粘菌肌动蛋白或肌肉的肌动蛋白都可以结合。另一突出的例子是由血小板得到的。血小板是一种很小的细胞，在血液凝固时聚集成有收缩性的小簇。血小板也发生形状变化和形成伪足，这些变化都与血凝块回缩有关。这些活动已追溯到肌动蛋白和肌球蛋白的存在，此两者与肌肉的肌动蛋白和肌球蛋白在分子量、聚合作用性质及 ATP 酶活性方面均非常相似。

从哺乳动物脑中也已经分离出一些肌动球蛋白样的蛋白质复合物，在脑内它们似乎是与突触小泡有关。在突触传递神经冲动时从突触小泡分泌神经传递物质。

微丝和细胞松弛素 B

某些细胞过程取决于与肌动蛋白有关但其分子的精确性质尚不清楚的微丝。这些细

胞活动被低浓度细胞松弛素 B(图 27-18)所抑制或产生其他影响。细胞松弛素 B 是 *Helminthosporium demataiderum* 霉的代谢物。对此物敏感的过程有：吞噬作用和胞饮作用(外面的固体和液体物质分别由细胞膜吞食)；胞质分裂(围绕正在分裂的细胞形成一收缩环)；胞吐作用(从细胞撵出物质)；与膜性质变化有关的各种类型的细胞和细胞器的运动，以及某些膜转运过程。因为已发现相当高浓度的细胞松弛素 B 能与从肌肉得来的肌动蛋白相结合，故有一种观点认为凡是被细胞松弛素 B 抑制的细胞过程都是通过肌动蛋白微丝或一种肌动蛋白样蛋白质的微丝所传递的，这种微丝可能位于细胞质或在细胞膜中。因此细胞中许多类型的运动、收缩和膜现象看来都是基本上相似的分子相互作用的结果，它们对单一的专一抑制剂细胞松弛素 B 都敏感。

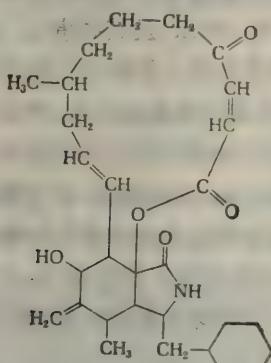


图 27-18 细胞松弛素 B 的结构

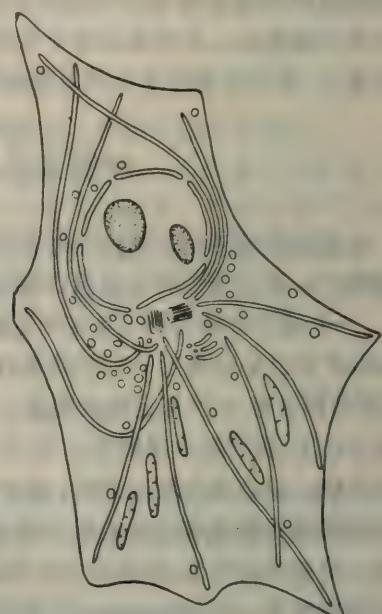


图 27-19 参考动物细胞的形状而提出的微管的作用。它们常从中心粒放射出去。[引自 J. Freed 和 M. M. Lebowitz, *J. Cell. Biol.*, 45: 344 (1970)]

微管和微管蛋白

用电子显微镜检查许多动植物细胞，发现其中有直径不同的中空管状丝体；虽然它们在许多不同的细胞排列中存在并以不同的方式相联结，但总的称它们为微管。微管存在于有丝分裂纺锤体中，或作为支持成分赋予某些细胞以形状(图 27-19)，在神经纤维的轴突中，在真核细胞的纤毛和鞭毛中，在精子的尾部和在成纤维细胞中都发现有微管。成纤维细胞是一种结缔组织细胞，通过微管的机械作用逐出胶原蛋白。微管是由重复出现的微管蛋白分子所构成，微管蛋白是一种含有两个亚基的球状蛋白。微管蛋白分子呈螺旋型排列而形成管壁，管的直径决定于其周围微管蛋白分子的数目。(图 27-20)

细胞内微管的形成独特地被某些药物所抑制，这些药物，即生物碱秋水仙碱以及霉产物长春花碱和长春新碱(图 27-21)，长时间以来就被认为是真核细胞细胞分裂的抑制剂。因为这些药物干预有丝分裂纺锤体的形成，因此阻止细胞分裂，有时它们被用来治疗迅速生长的癌。它们也是研究微管结构、形成和功能的重要工具。

微管蛋白是微管的亚基蛋白质，已从许多类型的细胞特别是从脑细胞以非聚合形式分离出来，在脑内微管经常地形成和分解；微管蛋白也可以从预先形成的微管获得。微管

蛋白的分子量为 120,000，由两条大小相等而又明显不同的多肽链所组成，称为 α 和 β 肽链。有重要意义的是微管蛋白含有紧密结合的 GDP；这一事实提示与肌肉的肌动蛋白有一相似处，后者含有紧密结合的 ADP。

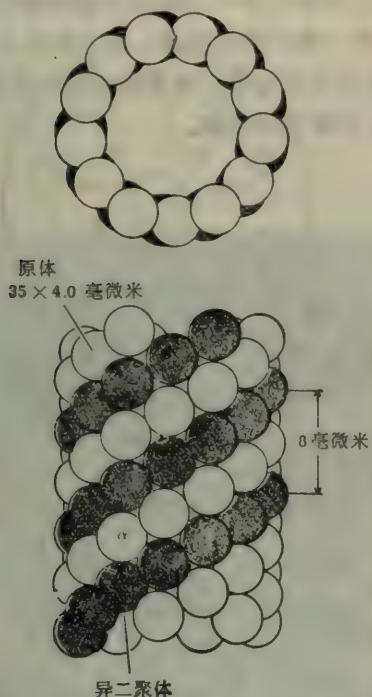


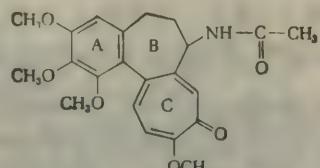
图 27-20 微管的模型。如图所示小管是由 α 和 β 微管蛋白亚基相交替的螺旋所构成。周围管壁上亚基的数目通常为 13，但由于机体不同可变异于 10 至 14 之间。[引自 J. Bryan, *Fed. Proc.*, 33: 156 (1974)]

微管的组合从“激活”的微管蛋白分子开始，激活的微管蛋白分子含有2个紧密结合的GTP分子，每个亚基上一个。通过微管蛋白分子侧面的和纵向的联结而组合成为微管。每当加上一个微管蛋白亚基时，就有一分子的GTP发生水解形成紧密结合的GDP和游离磷酸。长春新碱通过引起微管蛋白沉淀成三维聚合排列（这与正常微管结构十分不同）因而妨碍这一组合过程。秋水仙碱以不同的方式干扰微管形成；它与微管蛋白结合置换出结合在微管蛋白上的鸟嘌呤核苷酸，因此阻止了聚合作用。

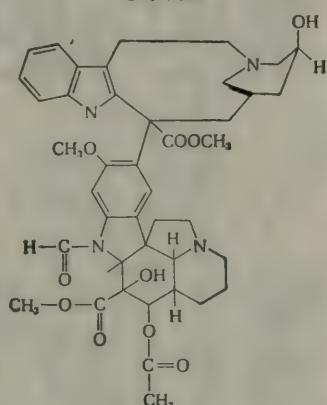
ATP 在肌动蛋白聚合作用中以及 GTP 在微管蛋白聚合作用中显然相似的作用证明在细肌丝和微管的生物组合上只有一种基本的分子逻辑类型。

真核细胞的鞭毛和纤毛

动物和植物世界的某些细胞都有鞭毛和纤毛。其长度范围从 2 微米左右（在某些原生动物中）到数毫米（某些物种的精子）；其直径约 0.2 微米（图 27-22）。鞭毛通常很长，每一细胞通常只有一或两条，其功能是推进细胞。精细胞尾是鞭毛的例子。纤毛较短，每一细胞的纤毛很多，通常起着沿细胞表面推动细胞外物质的作用。虽然鞭毛要长些，但由于



卷之三



长春新碱。(在有关的化合物长春花碱中,长春新碱的甲酰基被甲基所置换)

图 27-21 微管形成的专一抑制剂

两种附属器在结构和分子机构上惊人地相似，所以上述这些差异只是一个定义的问题。

真核细胞的鞭毛和纤毛含有一束成对的微管，称为鞭毛轴丝（Axoneme），它们埋在基质中，被一层膜——纤毛膜或鞭毛膜——所包围，它们和细胞膜是连续的（图 27-22 或 27-23）。微管独特地排列为 $9 + 2$ 的模式；九对小管排列成一个外环，包围着两条分开的中央小管。在纤毛和鞭毛的基部和细胞质内部有一圆柱形的结构，称为基部小体或动体，长约 0.5 微米，直径约 0.15 微米。动体的壁是由九组每组三条有横桥的纤维所构成。动体用来把 ATP 以及可能的其它物质转送至纤毛或鞭毛的干部。

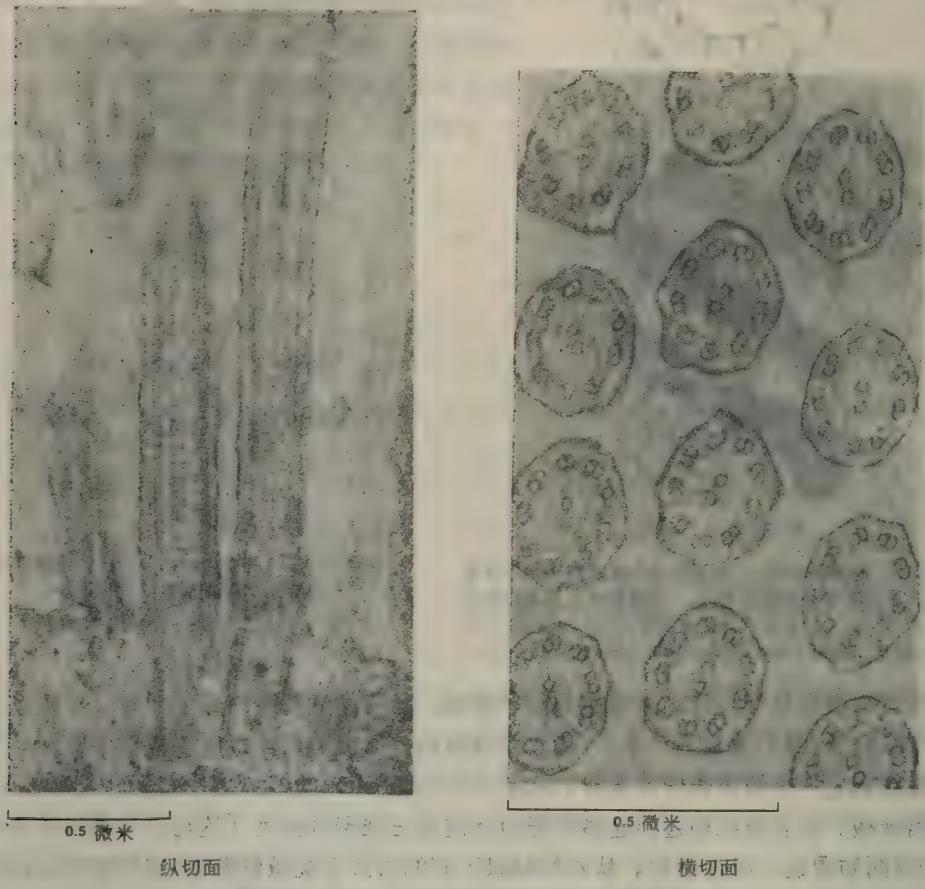


图 27-22 *HaHeria* 的纤毛横断面的电子显微镜相片

用电子显微镜详尽的研究了纤毛和鞭毛干的 $9 + 2$ 结构（图 27-22 和 27-23）。两条中央小管被包围在中央鞘内，横切面呈圆形，直径约 24 毫微米；其壁厚约 4.5 毫微米。外部的九对小管的每一对都含有一条完整的小管，另一条稍微小一点的小管融合于其上。从较小的小管有短臂状物突出。在某些鞭毛中，外部的微管和中心的微管由轮辐样横桥连结起来。每一微管的壁由 11 条或 11 条以上平行的直径约为 4.5 至 5.0 毫微米的原微丝所组成，它们沿长轴排列；原微丝由一串直径为 4.5 毫微米的球状亚基所组成。

鞭毛和纤毛可以从原生动物和其它单细胞真核生物脱落，然后用差速离心法分离出来。向分离出来的鞭毛和纤毛混悬液中加入 ATP 与 Mg^{2+} ，则引起它们发生局部的波状摆动，与完整细胞中鞭毛的摆动相似；同时，ATP 水解为 ADP 与磷酸。这些实验证明真核细胞

的纤毛和鞭毛与细菌鞭毛不同，而具有内在的力化学活性（图 27-24），细菌鞭毛则没有。

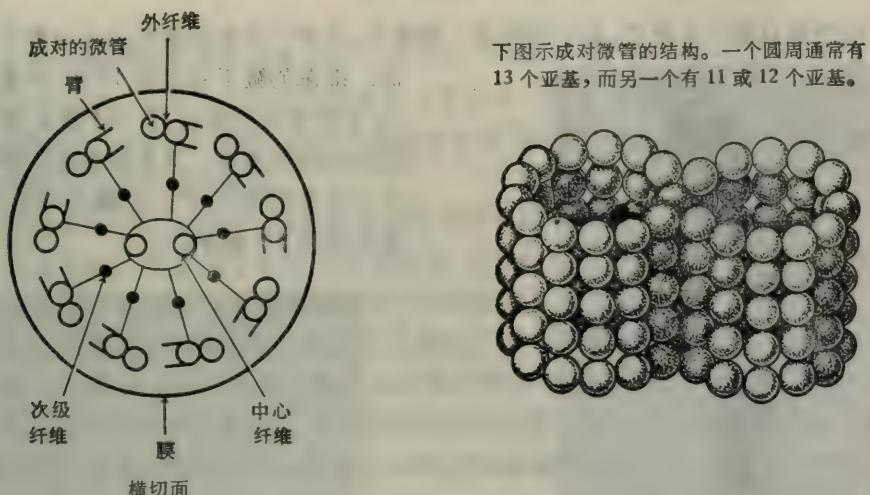


图 27-23 真核有机体的纤毛和鞭毛的结构，显示纤维的 9+2 排列。[引自 I. R. Gibbons and A. V. Grimstone, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 7: 697 (1960)]

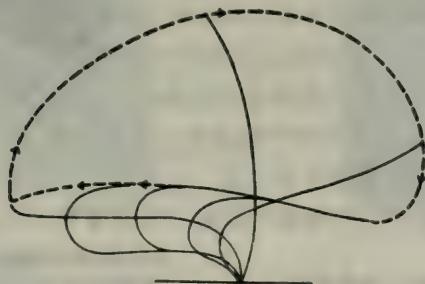


图 27-24 海生蠕虫 *Sabellaria* 的鳃内纤毛摆动的六个时期，这些纤毛长约 $30\mu M$ ，这些特殊的运动显然是由管状微丝互相之间的依赖于 ATP 的滑动所赋予。[引自 M. A. Sleigh, *Endeavour*, 30: 12 (1971)]

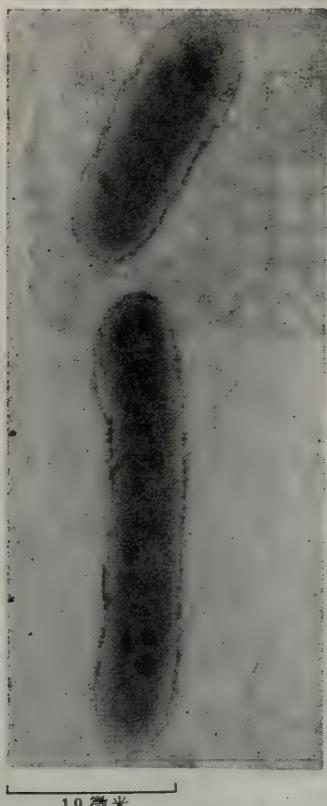
构成四膜虫和某些其它具有纤毛的有机体的纤毛外层小管的蛋白质已被提取出呈可溶状态，并加以化学分离。已经鉴定了三个主要部分。两个含有相当大的蛋白质，在有 Mg^{2+} 存在的情况下具有 ATP 酶活性，它们称为动力蛋白 (dyneins)。它们以不同的速率沉降，被称为 14S 动力蛋白 (分子量 = 600,000) 和 30S 动力蛋白。第三种成分要小得多 (4S) 并丰富得多，没有 ATP 酶活性；它显然与微管蛋白相同。

14S 和 30S 动力蛋白已获得高度纯净的形式。当 30S 动力蛋白溶液和去掉臂状物的外层小管的混悬液混合时，它便结合到小管上再构成臂状物。从这些实验得出结论，即臂状物具有 ATP 酶活性。ATP 水解使纤毛或鞭毛产生波样起伏的机制是当代最有兴趣的问题。高分辨力电子显微镜技术表明在鞭毛的正弦曲线波动时，成对的小管不发生长度的变化而是彼此相互滑动；它们在基部彼此附着。这里我们又为力化学能转化的滑动丝模型找到了一个证据。

细菌的鞭毛

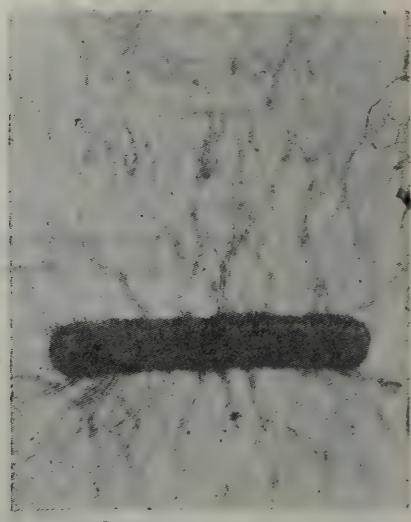
某些细菌只有一条鞭毛,其它的具有一簇鞭毛,还有一些细菌鞭毛分布在整个细胞表面。

细菌的鞭毛直径在 10 到 35 毫微米之间,长度有时可超过 10—15 微米,或者为细胞直径的许多倍。大多数细菌的鞭毛表现出一个有规则的均匀的弯曲(图 27-25)。波长约为 2.5 微米。



绿脓杆菌的两个细胞,每个细胞有一条极鞭毛。

(阴性反差)



奇异变形杆菌细胞有很多鞭毛,注意有规律的弯曲,弯曲的波长可以通过突变而改变[引自 J. F. M. Hoenerger, *J. Gen. microbiol.*, 40: 29 (1965)]

图 27-25 显示鞭毛的细菌的电子显微镜相片

细菌的鞭毛与真核生物的纤毛和鞭毛不同,它们要细得多,没有膜包围着,没有内在的力化学活性。由于在鞭毛附着的基部颗粒中 ATP 的化学能转化为机械能,在细胞内鞭毛的基部赋予鞭毛以螺旋状或旋转式的运动。鞭毛运动可能超过每秒 40 周,可使细菌推进的速度达到每秒 50 微米。许多细菌细胞朝向营养物质的来源“游泳”,这一过程称为“趋化性”。这些运动包括一系列的直线游动间或插入旋转和翻滚。

细菌的鞭毛在性质上是蛋白质,将它酸化到 pH 3 时,则离解为相同的单体亚基称为鞭毛蛋白(flagellin),大多数种类细菌的鞭毛蛋白分子量为 40,000。普通变形杆菌的鞭毛蛋白已获得结晶。X 射线证据表明细菌鞭毛由三股相互缠绕起来的鞭毛蛋白单体所组成。

从鼠伤寒沙门氏菌和其他细菌来的鞭毛蛋白含有许多 ϵ -N-甲基赖氨酸残基,这种氨基酸也存在于肌肉的肌动蛋白中。惊人的是在 pH 和盐浓度适宜的情况下,鞭毛蛋白单体会自动再集合起来,所形成的结构看来和完整的鞭毛一样,具备周期性的弯曲,其波长和

天然鞭毛相同。

摘要

骨骼肌细胞的肌原纤维包含许多功能节段——肌小节。每一肌小节由两类互相穿错的平行丝所组成。肌小节的各向异性带或 A 带含有一组平行粗丝，而各向同性带或 I 带含有一组细丝。收缩和松弛时，细丝沿着粗丝滑动，两者的长度都不变。肌肉收缩时粗细丝之间的横桥迅速接通和断裂。

粗丝由长杆状有突出的头部肌球蛋白分子的平行束所组成。肌球蛋白含有两条重多肽链和四条轻链。肌球蛋白有受 Ca^{2+} 激活的 ATP 酶活性，通过 Mg ATP 与其硫氢基相互作用则使肌球蛋白的 ATP 酶活性保持于抑制状态。

用胰蛋白酶可使肌球蛋白分裂生成两类碎片——轻酶解肌球蛋白和重酶解肌球蛋白。后者包括肌球蛋白分子的头部。ATP 酶活性即位于其中。肌球蛋白也能与细丝的主要蛋白质成分肌动蛋白结合。与肌动蛋白的结合涉及到与 ATP 酶活性有关的头部的同一-SH 基。由肌球蛋白水解结合着的 ATP 得到获能形式的肌球蛋白，这种肌球蛋白含有紧密结合的 ADP 和磷酸。

肌小节的细丝由两股相互重叠缠绕的 F-肌动蛋白所组成。F-肌动蛋白是球状 G-肌动蛋白单体的聚合物。ATP 促进 G-肌动蛋白的聚合，同时 ATP 脱磷酸成为 ADP。肌动蛋白也结合 Ca^{2+} ，肌动蛋白与肌球蛋白形成一个复合物肌动球蛋白，在有 ATP 存在的情况下它发生离解，这一现象可能是收缩时解除肌动蛋白与肌球蛋白丝之间的横桥的基础。细丝也含有原肌球蛋白，后者由两条螺旋形多肽链所组成，原肌球蛋白位于成对的 F-肌动蛋白股索的沟中。每七个 G-肌动蛋白单体有一分子肌钙蛋白，后者有三个亚基，一个亚基与 Ca^{2+} 结合，一个与原肌球蛋白结合，第三个与肌动蛋白结合。肌钙蛋白是一个具有调节作用的分子；当其与 Ca^{2+} 结合时，获得了能量的肌球蛋白头部便从与肌动蛋白的结合中释放出来而发生摆动。

继肌肉细胞膜兴奋之后，通过从肌浆网囊释放 Ca^{2+} 使肌肉开始收缩。从肌浆除去 Ca^{2+} 并通过一个依赖于 ATP 的转运过程将 Ca^{2+} 隔离在肌浆网中，肌肉便产生松弛。糖酵解或呼吸所产生的 ATP 是收缩和松弛的即时的能源；磷酸肌酸起着一种使 ADP 再磷酸化的高能磷酸基储库作用。软体动物的捕肌含有副肌球蛋白。

在许多种细胞中都发现有肌动蛋白样和肌球蛋白样丝，这些丝参与运动、伪足形成、吞噬作用、胞饮作用、胞吐作用和胞质分裂。细胞松弛素 B 抑制这些功能；它也与肌动蛋白结合。微管由微管蛋白亚基所组成，它们通过与 GTP 的相互作用而聚合。秋水仙碱、长春花碱和长春新碱干扰微管形成或功能。真核细胞的纤毛和鞭毛由九对小管和中央管道系统所组成。它们含有水解 ATP 的蛋白质称为动力蛋白，动力蛋白引起一种滑动丝类型的相互作用。细菌的鞭毛由重复出现的鞭毛蛋白单体所组成。参与运动和趋化学性。

参考文献

书籍

The Mechanism of Muscle Contraction, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., vol. 37. 1972. An important and comprehensive collection of over 70 papers on many different aspects of muscle, pre-

sented at an international symposium. The concluding article by H. E. Huxley summarizes the symposium.

Needham, D. M.: *Machina Carnis: The Biochemistry of Muscular Contraction in Its Historical Development*, Cambridge University Press, London, 1971.

Tonomura, Y.: *Muscle Proteins, Muscle Contraction, and Cation Transport*, University of Tokyo Press, Tokyo, 1972. A comprehensive survey of the field (433 pages; in English).

论文

- Bagshaw, C. R., and D. R. Trentham: "The Characterization of Myosin-Product Complexes and of Product-Release Steps during the Mg^{2+} -dependent ATPase Reaction," *Biochem. J.*, 141: 331—349 (1974).
- Brokaw, C. J.: "Flagellar Movement: A Sliding Filament Model," *Science*, 178: 455—462 (1972).
- Carter, S. B.: "The Cytochalasins as Research Tools in Cytology," *Endeavour*, 31: 77—82 (1972).
- Davies, R. E.: "On the Mechanism of Muscular Contraction," pp. 29—56 in P. N. Campbell and C. D. Greville (eds.), *Essays in Biochemistry*, vol. 1, Academic, New York, (1965).
- Gibbons, I. R., and E. Fronk: "Some Properties of Bound and Soluble Dynein from Sea Urchin Sperm Flagella," *J. Cell Biol.*, 54: 365—381 (1972).
- Harrington, W. F.: "The Molecular Basis of Muscle Contraction," *PAABS Rev.*, 1: 615—664 (1972). A short, critical review and commentary on important articles from five different laboratories, which are included in reprinted form.
- Huxley, H. E.: "The Mechanism of Muscular Contraction," *Science*, 164: 1356—1366 (1969). A model of cross-bridge function.
- Huxley, H. E.: "Muscular Contraction and Cell Motility," *Nature*, 243: 445—449 (1973). Shows the wide distribution of actin and myosin filaments in many types of cells and the general applicability of the sliding-filament concept.
- Kirschner, M. W., R. C. Williams, M. Weingarten, and J. C. Gerhart: "Microtubules from Mammalian Brain: Some Properties of Their Depolymerization Products and a Mechanism of Assembly and Disassembly," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 71: 1159—1163 (1974).
- Macnab, R., and D. E. Koshland, Jr.: "Bacterial Motility and Chemotaxis: Light-Induced Tumbling Response and Visualization of Individual Flagella," *J. Mol. Biol.*, 84: 399—406 (1974).
- Olmsted, J. B., and G. G. Borisy, "Microtubules" *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 507—540 (1973).
- Peachey, L. D.: "Sarcoplasmic Reticulum and Transverse Tubules of Frog Muscle," *J. Cell Biol.*, 25: 209—231 (1965). Excellent electron micrographs and drawings.
- "Pharmacological and Biochemical Properties of Microtubule Proteins," *Fed. Proc.*, 33: 151—174 (1974), A symposium of articles.
- Pollard, T. D., and R. R. Weihing: "Actin and Myosin and Cell Movement," *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 2: 1—65 (1974). An important survey and analysis of the role of actin and myosin in all aspects of cell motility.
- Satir, P.: "How Cilia Move," *Sci. Am.*, 231: 45—52 (1974). Excellent illustrations of molecular structure and motion of cilia.
- Spudich, J. A., H. E. Huxley, and J. T. Finch: "Regulation of Skeletal Muscle Contraction; II: Structural Studies of the Interaction of the Tropomyosin-Troponin Complex with Actin," *J. Mol. Biol.*, 72: 619—632 (1972).
- Weber, A., and J. M. Murray: "Molecular Control Mechanism in Muscle Contraction," *Physiol. Rev.*, 53: 612—673 (1973). Excellent comprehensive review of the regulation of contraction and relaxation.

习题

1. 骨骼肌每克湿重含有 ATP 约 5×10^{-6} 克分子和磷酸肌酸约 30×10^{-6} 克分子。假定糖酵解和呼吸作用均被抑制，试计算在理论上 400 克肌肉仅靠其高能磷酸化合物能够做出多少功(以卡计)。

2. 如果肌糖原是唯一的燃料，而且如果所有糖原都是可利用的，试计算骨骼肌最高活动时肌糖原供给(肌肉湿重的 0.8%)可以维持多久。回顾一下(见正文)，ATP 的正常含

量 (5×10^{-6} 克分子/克) 只够最大活动 0.5 秒。假定肌肉自始至终一直保持有氧状态。

3. 一个运动员在 100 码短距离赛跑时在标准温度压力下消耗约 1.2 升纯氧，而在相等的休息时间内，它只消耗 40 毫升。在恢复期间，它比静止水平额外多消耗氧 4.9 升。假定葡萄糖是唯一的燃料，计算 (a) 氧债；(b) 100 码短距离赛跑时额外氧化的葡萄糖量；(c) 恢复期间额外氧化的葡萄糖量，以及 (d) 短距离赛跑时，转化为乳酸的葡萄糖量高出基础静止水平多少。

4. 如果第 3 题中 100 码短距离赛跑在 10 秒内完成，计算一个 70 公斤重的运动员其肌肉葡萄糖总消耗率（每克肌肉每分钟的葡萄糖克分子数）。假定肌肉构成总体重的 40%。

5. 根据 3、4 题中的数据计算 100 码短距离赛跑时运动员的肌肉中 ATP 的利用率(克分子/克肌肉/分钟)。

6. 绿头苍蝇在 25°C 时每克体重每分钟消耗氧约 1000 立方毫米，计算其飞翔肌 ATP 的利用率。绿头苍蝇重 50 毫克，其中约 10 毫克为飞翔肌。

7. 根据表 15-4 中的数据计算在 25°C 和 pH 7.0 的情况下磷酸肌酸激酶反应的平衡常数。

8. 在高能磷酸供给是 (a) 丰富的和 (b) 减少的情况下，骨骼肌组织中肌酸激酶反应底物的近似浓度见下表。计算在这些情况下肌酸激酶反应的自由能变化。

磷酸肌酸 + ADP \rightleftharpoons ATP + 肌酸

(a) $K_m = 26.7$ 毫摩尔， $K_m = 0.072$ 毫摩尔， $K_m = 7.93$ 毫摩尔， $K_m = 13.3$ 毫摩尔

(b) $K_m = 0.507$ 毫摩尔， $K_m = 3.14$ 毫摩尔， $K_m = 2.17$ 毫摩尔， $K_m = 39.5$ 毫摩尔

[唐恢玲译 任邦哲校]

第二十八章 横过膜的主动转运

我们现在来讨论细胞的第三个主要的需能活动——主动转运，我们目前把主动转运定义为代谢产物或一种无机离子逆着浓度梯度横过膜的需能运动。由于在某些特化的动物组织，例如肾脏，高至 70% 的可供利用的代谢能量用之于主动转运过程，所以这决不是细胞的最小的主要需能活动。

由于生物膜有一个由磷脂双层所组成的连续的非极性碳氢核心，所以从本质上来看它们对大多数极性分子都是不通透的。这一特性在生物学上是有益的，由于它防止细胞内的代谢产物（大多数都是离子化的）从细胞扩散出来。但是，活细胞必须从环境获得某些极性营养物如葡萄糖和氨基酸，而这些物质在环境中浓度可能很低，活细胞也必须排出或分泌各种离子或极性分子。为此它们必须有完备的专一性膜转运系统，这些系统不仅把极性营养分子运载过膜，而且可以逆浓度梯度进行。由主动转运系统所产生的浓度梯度可能是很高的。

除了从周围介质转运燃料和必需的营养物质之外，主动转运系统还有许多重要功能。纵然外环境的成分波动很大，主动转运系统通过其维持有机营养物质和代谢产物细胞内浓度相对恒定的能力参与代谢恒态的维持。主动转运系统也使无机电解质（特别是 K^+ 和 Ca^{2+} ）的细胞内浓度维持在恒定的和最适的水平上，这些电解质对许多重要的细胞内活动的调节都是必不可少的。此外，它们也有助于维持细胞与周围介质之间的渗透关系，从而有助于维持细胞的体积。神经系统传递信息以及肌肉组织的兴奋与松弛周期也涉及到主动转运系统；它们在肠上皮的吸收活动和肾脏的分泌功能中也起作用。主动转运的另一极为重要的作用可设想为：在氧化磷酸化和光合磷酸化过程中将电子转运的能量转变为 ATP 的化学能，因为在这些过程中将 H^+ 泵过线粒体膜和叶绿体膜可能是必不可少的中间步骤。

直到近年来，关于主动转运的分子基础，生物化学方面的报道很少。大多数的研究局限于完整细胞和组织中主动转运过程的速率和专一性。但由于有了新的重要的实验方法，许多参与主动转运的膜蛋白已经被分离出来，这一进展把这个重要的需能细胞功能提供给生物化学直接研究。今天，膜转运的分子基础是生物化学研究的一个大而迅速发展的领域。

主动转运的能学

当加水使溶液稀释时，其自由能减少而熵增加；溶质分子现在相距更远，因此其排列更为不规则。相反当稀溶液浓缩时，其自由能增加。因此，把一定浓度的溶质转运到浓度较高的隔室需要输入自由能；相反，当一种溶质进入浓度较低的隔室时，自由能减少（图 28-1）。因此用热力学的术语严格规定：在转运过程中凡是系统获得自由能的为主动转运，而在转运过程中系统失去自由能的为被动转运。

如图 28-1,当 1.0 克分子的不带电荷的溶质从一个其溶质浓度为 C_1 的隔室移动到另一个其溶质浓度为 C_2 的隔室时,所发生的自由能变化 $\Delta G'$ 可用下列方程式表示:

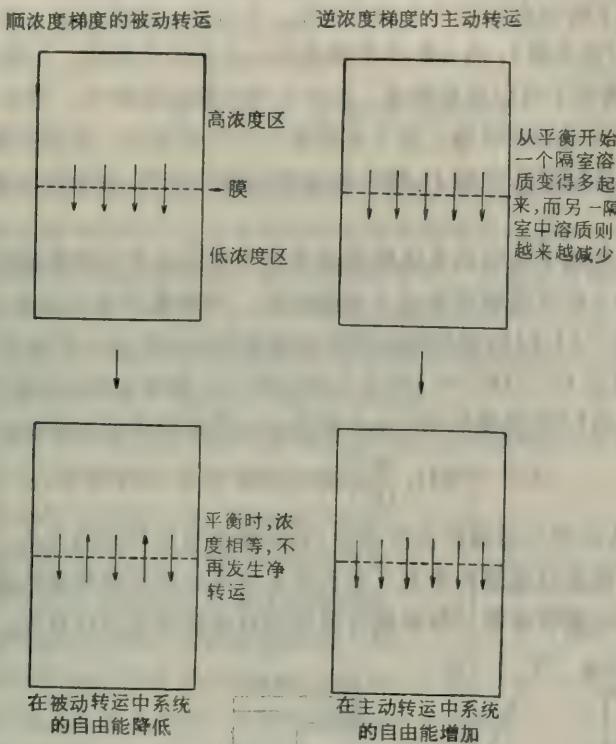


图 28-1 主动转运和被动转运的图解

$$\Delta G' = RTI_a \frac{C_2}{C_1} \quad (1)$$

式中 R 和 T 系通常规定的含义。这个方程式假定被转运的溶质不带净电荷,且在两隔室中分子种类不变。当 1.0 克分子的溶质例如葡萄糖从其浓度为 0.01 M 的隔室被转运到浓度高 10 倍(即 0.1M) 的隔室时,根据此方程式即可算出转运过程中在 20°C 时发生的自由能变化。

$$\Delta G' = RTI_a \frac{0.1}{0.01} = 1.98 \times 293 \times 2.303 \times \log 10 = 1.340 \text{ 卡} = 1.34 \text{ 千卡}$$

由于计算得的自由能变化的符号是正的,可见逆 10:1 的浓度梯度转运葡萄糖不会自动地发生。但如果它和自由能继续降低的某些其他过程例如 ATP 的水解偶联起来的话,葡萄糖的上述转运是可以发生的。因为水解 ATP 的标准自由能为 -7.3 千卡/克分子,理论上水解 1 克分子 ATP 产生的能量远超过足够使 1 克分子葡萄糖(或任何其它不带电荷的溶质)逆 10 倍的浓度梯度从一个隔室转运到另一个隔室所需的能量。但除非有一种机制把 ATP 水解和葡萄糖转运过程偶联起来,否则 ATP 的能量是不能用于主动转运的。

如果我们所考虑的溶质是带电荷的,则主动转运过程的自由能变化的方程式就更为复杂,因为有两个梯度存在:(1)质量梯度以及(2)电荷或电位的梯度。这两个梯度加起来称为电化学梯度。带电荷的离子在转运过程中的自由能变化可由方程式(1)的修正式得出,它含有质量梯度与电荷梯度的各项:

$$\Delta G' = RTI_n \frac{C_2}{C_1} + ZF\Delta\Psi \quad (2)$$

$ZF\Delta\Psi$ 项代表由于转运电荷所产生的自由能。Z 为每一溶质分子上的电荷数，F 为法拉第(96,493 库伦/克当量)，而 $\Delta\Psi$ 为两隔室间电位差的伏特数。生物膜两侧的电梯度，即膜电位，在某些情况下可以直接测量，如在大神经或肌细胞中。在另一些情况下，膜电位只能由间接的方法得到近似值。由于其他离子的代偿运动，测得的膜电位通常是非常小的。在神经和肌肉细胞的功能上，膜电位起着主要的作用，在线粒体膜和叶绿体膜上亦可能如此。

细胞膜内的大多数主动转运系统能够逆着相当高的浓度梯度驱动转运。糖类和氨基酸可以逆超过 100:1 的浓度梯度被运入细菌细胞。在哺乳动物从血浆 (pH = 7.4) 分泌 H^+ 入胃液 (pH 约为 1) 时所发生的主动转运梯度是已知的给人印象最深刻的一种。这样， H^+ 的梯度就超过 $10^{-1}/10^{-7} = 10^6$ 或 1,000,000:1。假定血浆与胃液两者都是电中性，则利用方程式(1)，当 1.0 克当量的 H^+ 从血浆分泌入胃液时所发生的自由能变化应为：

$$\Delta G' = RTI_n \frac{10^{-1}}{10^{-7}} = 8.040 \text{ 卡} = 8.04 \text{ 千卡}$$

图 28-2 说明人的某些体液的大致成分，表示某些溶质梯度的大小。利用方程式(1)或(2)，我们可以计算出从血浆产生某一容积的体液例如尿所需要的最小量的功；这个数值是在血液和尿之间转运每一种溶质时出现的自由能变化的代数和。

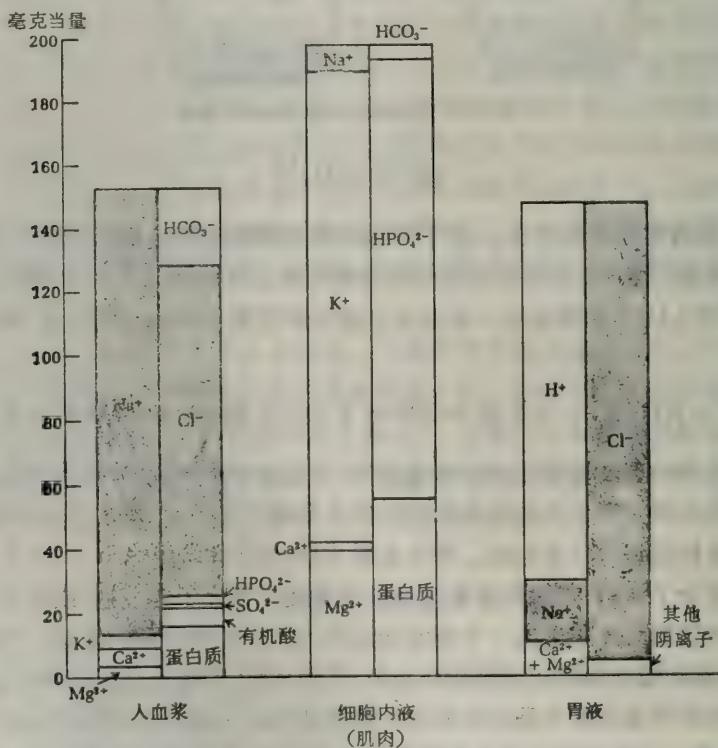


图 28-2 人类血浆、细胞内液和胃液的离子成分。注意：血浆和细胞内液之间 Na^+ 和 K^+ 浓度的差别特别大，而在血浆 (pH 7.4) 和胃液 (pH ≈ 1.0) 之间 H^+ 浓度差别极大。

这种计算没有考虑到细胞是开放系统并且不呈热力平衡这一事实。细胞膜两侧任一

已知溶质的浓度梯度是恒态的一种反映，而恒态则是主动转运溶质入(或出)细胞和被动回漏过程这两种对抗过程的结果。维持细胞膜两侧某一浓度梯度所需要的功不仅要考虑到梯度的大小，而且要考虑到回漏的速率。

鉴定媒介膜转运的特征

通过非媒介过程或媒介过程，溶质可以穿过膜发生净运动或流动；媒介过程也称为易化过程。通过转运速率的测定以及某些条件是如何影响转运速率的，可以区别这些过程。非媒介转运过程的速率总是直接随溶质的浓度而变化，其温度系数通常就是物理扩散的温度系数，即温度每升高 10°C 约1.4。一种溶质的非媒介转运完全只是溶质随其浓度或电化学梯度而发生的简单物理扩散的结果。在非媒介流动过程中，溶质分子在其穿过膜时既不在化学上被修饰，也不与其他种类分子相结合。

另一方面，媒介膜转运过程或易化膜转运过程可以是被动的，也可以是主动的，表现出不同的且较为复杂的行为。鉴定媒介转运的第一个特征是它表现出饱和动力学；即转运系统可以被其转运的物质所饱和，正如酶可以被其底物所饱和一样。用媒介转运过程的初速度对底物浓度作图，通常显示出双曲线，在就底物而言（图28-3）反应速率为零级时接近最大值，这与酶动力学的 Michaelis-Menten 关系相似。这种行为提示膜转运系统含有一个专一位点，为了运过膜，底物必须可逆地结合于这一位点上。同时也提示正如酶底物复合物的形成(或分解)速率可以限制一个酶促反应的速率一样，在膜的一侧和底物结合的速率、底物的转运过膜、或其在膜的另一侧的释放等也可以给转运速率规定一个上限。

媒介转运的第二个准则是对被转运物质的专一性。例如某些脊椎动物的红细胞有一个膜转运系统，它促进D-葡萄糖和一些结构上近似的单糖进入红细胞，但对D-果糖或双糖(例如乳糖)则只有很少或没有活性。媒介转运也可以表现立体专一性；因此动物细胞膜的氨基酸转运系统对L-氨基酸的转运比对D-异构体要活跃得多。根据这些发现可以假定膜内的媒介转运系统含有一个与被转运物质互补的结合位点，其专一性类似于酶分子的活性位点。

媒介转运的第三个准则是它常可十分专一地被抑制。结构上与底物近似的物质与底物竞争专一性的结合位点，从而使某些生物学转运系统受到竞争性抑制。N-乙基顺丁烯二酰亚胺是一种巯基阻断剂，2,4-二硝基氟苯能阻断游离氨基。这些能够阻断或改变蛋白质的专一功能基团的试剂均可非竞争性地抑制其它转运系统。

媒介转运的这些特性有力地提示生物膜含有一些能够与专一性底物可逆地结合并将底物运送过膜的蛋白质分子。这些蛋白质或蛋白质系统有不同的名称，如转运系统、载体、

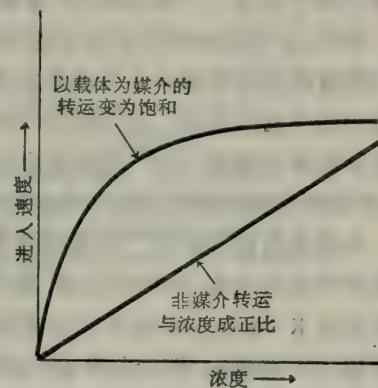


图 28-3 膜转运过程的饱和动力学，媒介转运有一最大速度 V_{\max} ，在此速度时载体被饱和，而通过简单物理扩散的非媒介转运通常是与溶质的浓度变成正比，且不出现饱和现象。脂溶性小分子，例如不离解的乙酸或 β -羟丁酸，易于通过生物膜在 pH 为 7.0 时，足够浓度的这些弱酸允许非媒介转运迅速进行。

搬运者或移位酶。载体分子可通过扩散将其配体运载过膜，也可以在膜内旋转，或者发生构象变化在膜内产生一个“孔”以转运专一性底物。

所有的转运过程(不论是否是媒介的)最后都是扩散的结果，基于对这一事实的认识，媒介转运有时称为易化扩散。在媒介转运中，底物载体复合物可能发生平移扩散或转动扩散，随膜内复合物的梯度而定。

主动媒介转运和被动媒介转运

通过生物膜的所有媒介转运过程均具有饱和度、底物专一性和专一性抑制等上述三种特性。但应用其它准则，可将它们分为主动的和被动的两类。

第一个准则是某一转运过程是逆还是顺一种梯度发生。这就要求精确了解两个有关隔室中被转运物质的浓度，并保证存在于两隔室中的物质在分子或离子种类上相同。在从血浆分泌胃液的情况下，用只对游离 H^+ 敏感的玻璃电极测量两液体的 pH，使人确信由胃上皮产生了一个很大的 H^+ 梯度。

然而，由于现有的分析方法不可能辨别游离的溶质与结合的溶质，因而生物膜两侧溶质的浓度梯度的精确大小不总是容易测量到的。例如 Ca^{2+} 就是和细胞内其它溶质特别是蛋白质牢固地结合。由于结合 Ca^{2+} 对游离 Ca^{2+} 的热力学梯度不作出贡献，因此只能测定细胞或体液的 Ca^{2+} 总含量的分析方法便不能精确测定细胞膜两侧 Ca^{2+} 的真实梯度。常需要特殊的分析方法来确定无热力学的溶质的浓度。

主动转运过程的第二个准则是其对代谢能的依赖性。如果待查的转运过程有赖于糖酵解或呼吸作用或 ATP 的水解，则可认为它是一个主动转运过程。例如某物种的红细胞使细胞内 K^+ 浓度正常维持于很高的水平并撵出 Na^+ 。如果将一种糖酵解的抑制物——氟化物加入红细胞，则细胞内 K^+ 浓度下降而 Na^+ 浓度增加，直到它们在膜两侧的浓度将近相等的状态。由于红细胞对 Na^+ 和 K^+ 浓度梯度的维持依赖于产生 ATP 的糖酵解过程，因而是一个主动转运过程。另一方面，其它的媒介转运过程，如葡萄糖进入人类红细胞的运动，在代谢能源被阻断时也不被抑制，故可以断定这些系统进行着被动媒介转运。

主动转运系统的正常需能功能是单方向的；即它们只朝一个方向将底物转运通过膜。例如红细胞的主动转运系统只使 Na^+ 朝向外的方向而使 K^+ 朝向内的方向移动。这一行为与葡萄糖的被动媒介转运恰成鲜明的对比，葡萄糖的被动媒介转运可随便朝哪一个方向移动，取决于两隔室中葡萄糖的相对浓度。

值得注意在没有代谢能量供给的情况下，细胞的某些主动转运系统也可以将其底物朝任一方向被动运送过膜，取决于两隔室中底物的相对浓度。

媒介转运的模型

根据上述特性提出了转运系统的一般化模型(图 28-4)。这些模型假定一种专一的蛋白质起着底物载体的作用，这种蛋白质含有一个与被转运底物互补的结合位点。它通过扩散过膜、通过旋转或通过构象变化将底物分子带过膜，于是结合位点现在面向另一隔

室，所结合的底物便被释放入此隔室。在被动媒介转运系统中，这个过程是完全可逆的，溶质分子的净运动可以朝任一方向，取决于两隔室中底物的相对浓度。在主动转运系统的模型中，载体分子以某种方式“能量化”，以成功地逆梯度单方向地转运，例如通过一种依赖于能量以改变转运系统中膜的一侧的底物结合亲和力。（图 28-4）

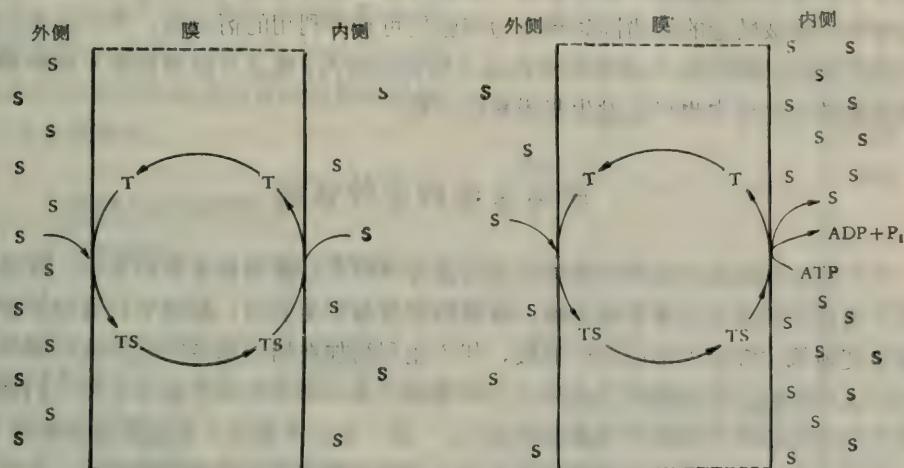


图 28-4 膜转运机制的模型

被动转运机制：被转运的物质 [S] 与一种专一的转运蛋白质 [T] 结合形成 TS 复合物，后者将 S 带过膜。在这种情况下转运自左至右，朝着低浓度的方向。被动转运可以朝任一方向进行，取决于浓度梯度的方向。

主动转运机制：在这一模型中，ATP 的能量用于自载体“卸下”底物。这可能是由于引起的载体蛋白质构象改变降低了内表面上载体的亲和力的缘故。

图 28-4 膜转运机制的模型

如果某些主动转运系统的能量供给被切断，则它们可以象被动转运系统一样起作用，因而推测它们含有至少两种成分。一种成分起着识别底物、与底物结合和可逆地朝任一方向载运底物的作用；而另一成分则是将载体分子的作用和一个能源（如电子转运或 ATP 水解）偶联起来所必需的，通过这种方式使主动过程只朝一个方向发生。

基团易位过膜

在主动转运中，被转运的底物产生浓度梯度而没有底物的化学修饰。在另一种膜转运过程中，被转运的底物不得不转变为另一类化学物质。例如在许多细菌中葡萄糖在通过膜转运入细胞的过程中同时磷酸化为葡萄糖 6-磷酸，被转运的葡萄糖便以这种形式出现在细胞

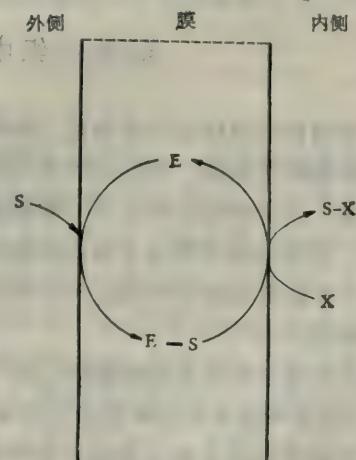


图 28-5 基团-易位过程的模型。细胞膜外侧的底物 S 受结合于膜上的酶 E 的作用，与由细胞内产生的第二种底物 X 一起生成产物 S-X，在膜的内表面释放。通过这一过程将基团 S 同时转变为另一化学物质并移入细胞内。

内。这样的一种过程显然需要代谢能量来进行磷酸化作用，但不能称它为主动转运，因为被转运的底物已经过化学修饰为另一种物质了。这种由于某一化学基团的易位而不是由于分子或离子不加改变而易位所产生的膜转运过程称为基团易位。在某种意义上来说，基团易位和真正的主动转运过程一样，能达到同样的结果，因为它也能消耗代谢能量使化学基团从稀释的外部介质进入细胞内以造成其细胞内的浓度（图 28-5）。此外，它还有利于将被转运的物质同时转变为细胞更可直接利用的衍生物。例如游离的葡萄糖通过基团易位以葡萄糖 6-磷酸的形式运入细菌细胞内，使之可以直接进入糖酵解程序。在氨基酸转运过程中也可以发生基团易位过程。

转运系统的遗传证据

关于转运系统的功能和生物学方面的遗传学研究已获得极重要的知识。现描述一例如下。当某些细菌在以葡萄糖为唯一碳源的培养基中生长时，虽然它们通过三羧酸循环能高速度地氧化细胞内形成的柠檬酸，却不能利用加在培养基中的外源性柠檬酸。然而假如把这些细胞从葡萄糖培养基移入以柠檬酸为唯一碳源的培养基中，则它们迅速适应并获得利用外源性柠檬酸作为碳源的能力。这一效应不是由于细胞膜通透性的普遍增高，因为在柠檬酸中生长的细胞没有获得利用除柠檬酸以外的底物的能力。这些发现导致这一结论，即这些细菌含有一个可诱导的柠檬酸转运系统。当细菌从培养基得到丰富的葡萄糖供给，特别是如果葡萄糖是唯一碳源时，则不需要柠檬酸转运系统，遗传上其生物合成便受到阻抑。业已发现这些细菌的突变种丧失了应答外源性柠檬酸而形成柠檬酸转运系统的能力。但人们认为这种在种属上称为转运阴性（transport-negative）的突变种在代谢的所有其它方面均正常。

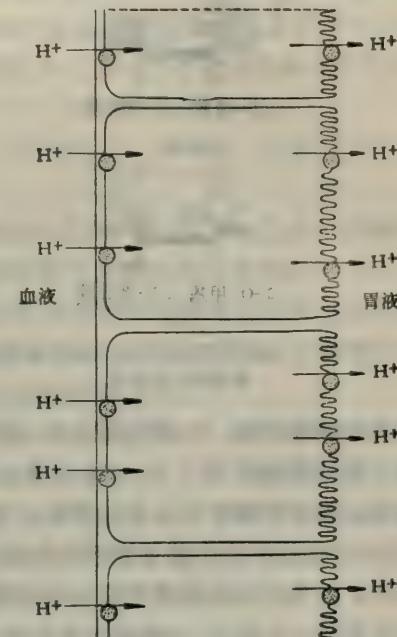
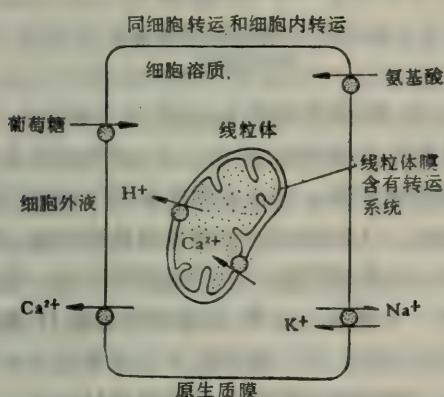
从这些实验得出结论，正如催化一条代谢途径的多酶序列的蛋白质组分一样，膜转运系统的分子组分也是由遗传所决定的。

动物组织中膜转运系统的结构

动物组织的膜转运系统构成三种形态上不同的类型，称为同细胞的、横过细胞的、和细胞内的膜转运系统。同细胞转运为存在于原核细胞和真核细胞的最常见和最普遍的膜转运过程。这种转运过程发生于细胞膜的两侧致使某种有机底物或无机离子被运入或运出细胞。所有细胞都具有这种同细胞的系统以向内转运其营养物，特别是糖和氨基酸。此外，在大多数类型的动物细胞含有同细胞的转运系统以便把 Na^+ 排出周围介质而维持高浓度的细胞内 K^+ 。

横过细胞的转运是同细胞转运的一种特殊情况，在其中转运系统位于细胞表面的特殊部位，以便可能将底物转运经过或横过整个细胞。这种排列存在于上皮细胞层，例如，胃和小肠粘膜以及衬着肾小管的上皮细胞。这些薄层的上皮细胞促进横过细胞层的转运，例如，从血液到胃液。上皮细胞层中的转运系统就是这样组织在细胞膜中的，以致通过细胞发生有方向性的转运，这大概是因为主动转运系统仅位于细胞屏障的一侧之故。（图 28-6）

在真核细胞中第三种类型的膜转运为细胞内转运这是一种横过内细胞器如线粒体、叶绿体或肌浆网等的膜而发生的转运过程。这种细胞内转运系统在细胞溶质和细胞器的内部介质之间起着转运无机盐或代谢产物的作用。这种类型的膜转运过程参与线粒体内 ATP 和许多代谢产物的分隔作用，也参与细胞溶质和肌浆网之间 Ca^{2+} 的转运从而调节肌肉的收缩松弛周期以及从细胞溶质转运 Ca^{2+} 进入线粒体。



通过胃粘膜上皮细胞层的横过细胞的转运。
净运动的方向是从血液到胃液。

图 28-6 细胞和组织中膜转运系统的结构

动物组织中的被动转运系统

现将高等动物细胞内某些有代表性的转运系统的生物化学特性叙述如下。首先我们将考虑被动转运系统。

人类红细胞的葡萄糖载体

人类红细胞的葡萄糖载体是大家最熟知的被动转运系统之一，它促进葡萄糖顺其浓度梯度的净转运。D-葡萄糖进入人类红细胞的速率随底物浓度而增加，但在最后接近于最大速率时，转运系统即被饱和。然而，葡萄糖进入某些其它种类的脊椎动物(如母牛)的红细胞的速率，则不表现饱和效应；显然在后面这一种动物中遗传学上缺乏类似的葡萄糖载体。在人的红细胞内葡萄糖载体有相当广泛的底物专一性，能够转运 D-葡萄糖以外的许多糖类，包括 D-甘露糖、D-半乳糖、D-木糖、D-阿拉伯糖和 D-核糖以及非天然和不能被代谢的衍生物如 2-脱氧-D-葡萄糖和 3-O-甲基-D-葡萄糖(图 28-7)，后两者常用做试验底物。而可比照的左旋糖是不被转运的。为了获得最大的活性，所转运的糖必须是椅式构形的吡喃糖，即在赤道位置上带有羟基。已经假定人类红细胞的葡萄糖载体是在三个赤道羟基上和糖结合的。

红细胞的糖载体对每一种糖都有一种特有的亲和力。将 K_M 值规定为得出半最大转

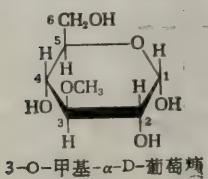
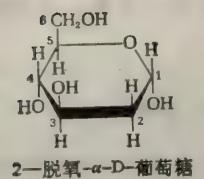


图 28-7 被转运但不被代谢的两种 α -D-葡萄糖的衍生物

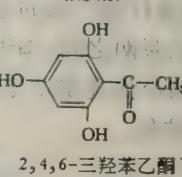
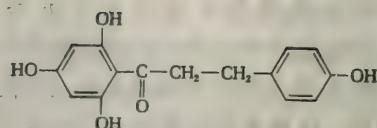


图 28-8 人类红细胞葡萄糖转运的抑制剂

运速度的底物浓度, D-葡萄糖的 K_M 值约为 6.2 mM , D-甘露糖的 K_M 值约为 18.5 mM 。人血液中葡萄糖浓度约为 5.0 mM 。半最大活性所需要的 D-果糖浓度 ($K_M > 2000 \text{ mM}$) 是如此之高, 以致葡萄糖载体在生物学上不起转运果糖的作用。化合物根皮素和三羟苯乙酮(图 28-8)是红细胞中葡萄糖转运的竞争性抑制剂。人红细胞的葡萄糖载体确定是一种蛋白质, 因为它可以被某些能与氨基酸残基的专一功能基团起反应的试剂所灭活。载体的活性需要一个巯基(大概是半胱氨酸残基的)和一个氨基。此外, 葡萄糖转运被 D-葡萄糖异硫氰酸不可逆地抑制, 后者是结合位点的亲和性标记。这个试剂由于其葡萄糖样结构而结合到葡萄糖结合位点上; 然后其具有高度反应性的异硫氰酸基与葡萄糖结合位点上的一个氨基或位点附近的一个氨基共价地起反应。从用这一试剂或其他试剂所做的实验已推断出每一红细胞含有约 300,000 个葡萄糖结合位点, 这些位点在将葡萄糖被动运送过膜的过程中起作用。

线粒体的 ATP-ADP 载体: 交换扩散

线粒体内膜中有几种被动交换转运或交换扩散系统, 如早已描述过的二羧酸和三羧酸载体。线粒体膜 ATP-ADP 载体是研究得最多的一个例子, 其正常功能是转运一分子 ADP 进入线粒体基质, 在基质中发生氧化磷酸化作用, 交换一分子 ATP 从基质回到细胞溶质。ATP-ADP 载体只促进横过膜的交换而不导致核苷酸的净转运。促进这种交换的转运系统称为反搬运 (Antiport) 系统。

ATP-ADP 载体对 ATP 和 ADP 以及对 dATP 和 dADP 是有专一性的; 它不转运 AMP 或任何其他二核苷酸或三核苷酸。它是可饱和的并对 ADP 和 ATP 表现出很高的亲和力。许多证据表明它有两个底物结合位点, 一个在内膜的里面而另一个在内膜的外面。如已经指出的那样, ATP-ADP 载体受苍术苷和米酵霉酸强烈而专一地抑制。这个载体也可以朝任一方向以 $\text{C}^{14}\text{-ADP}$ 交换未标记的 ADP 以及以 $\text{C}^{14}\text{-ATP}$ 交换 ATP。

动物组织的主动转运系统

动物组织中有三大类主动转运系统: (1) 利用代谢能量将 Na^+ 运出细胞并将 K^+ 运

入细胞的 Na^+ 和 K^+ “泵”，(2)葡萄糖和其他糖类的主动转运系统，和(3)氨基酸的主动转运系统。其中以 Na^+ 和 K^+ 泵显得最活跃和普遍存在；它几乎存在于所有动物的细胞膜内。此外，较多的证据提示 Na^+ 和 K^+ 泵对葡萄糖泵和氨基酸泵的运行也是必不可少的。因此我们将详细研究 Na^+ 和 K^+ 的主动转运，特别因为已经从生物化学的观点非常深入的研究了它。

转运 Na^+ 和 K^+ 的 ATP 酶系统

大多数动物细胞内 K^+ 浓度维持相对高和相对恒定于 120 至 160mM 之间，而细胞内 Na^+ 浓度通常低得多，少于 10 mM。由于哺乳动物的细胞外液含有相当高浓度的 Na^+ ，约 150mM，和非常低浓度的 K^+ ，通常少于 4mM，所以在细胞膜两侧存在着实际上的 K^+ 和 Na^+ 的梯度。高浓度细胞内 K^+ 的恒定是通过需能驱赶 Na^+ 出细胞而代之以 K^+ 来维持的，这一过程是由称之为 $\text{Na}^+ \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的主动转运系统所促进的。

有几种过程对动物细胞内部节约措施或功能来讲都是很重要的。这些过程都需要相当高浓度的细胞内 K^+ 。一个是由核糖核蛋白体生物合成蛋白质。第二是许多酶的最大活性需要 K^+ 。例如在糖酵解序列中丙酮酸激酶的最大活性需要 K^+ 。第三，细胞膜两侧由代谢所维持的 Na^+ 和 K^+ 的梯度参与可兴奋组织膜电位的维持。膜电位是以动作电位的形式传递冲动的媒介，即当膜在受到刺激或被兴奋时，通过突然增加膜对 Na^+ 和 K^+ 的通透性引起膜电位的瞬时放电或消失。

在 1957 年一个重要的突破将撵出 Na^+ 和积蓄 K^+ 的分子基础提供给生物化学直接研究。在丹麦，J. C. Skou 发现 ATP 被一小部分蟹神经匀浆(现在知道含有细胞膜碎片)水解为 ADP 和磷酸，其最大活性需要 K^+ 和 Na^+ 两者以及 Mg^{2+} (大多数以 ATP 为底物的酶促反应都需要 Mg^{2+})。只加入 Na^+ 或 K^+ 产生很小刺激作用。这个发现是不平常的，因为大多数需 K^+ 酶类被 Na^+ 所抑制。然而，最有意义的是以后的观察，即 Na^+ 和 K^+ 对这种细胞膜制备的 ATP 酶活性的刺激作用受糖苷 G 毒毛旋花子苷的抑制，而 G 毒毛旋花子苷长时间以来就知道可抑制完整细胞膜的 Na^+ 和 K^+ 转运。G 毒毛旋花子苷(图 28-9)是一组称为强心糖苷的有关化合物中的一员，强心糖苷能改变心肌的兴奋性，心肌的兴奋性取决于膜两侧 Na^+ 和 K^+ 的平衡。Skou 假定膜碎片的这种受 Na^+ 和 K^+ 刺激的 ATP 酶活性相当于神经细胞膜的 Na^+ 和 K^+ 泵，他进一步假定这种 ATP 酶的最大活性因此也就是对 ATP 水解的最大速率需要的膜内表面的 Na^+ 和膜外表面的 K^+ 。从此，发现许多不同动物组织的细胞膜碎片都含有这种受 Na^+ 和 K^+ 刺激的 ATP 酶活性。可兴奋的细胞例如脑、神经和肌肉以及电鳗的电器官特别富于这种酶。 Na^+ 转运上皮组织例如肾的皮质、唾液腺和海鸥的盐腺，此酶活性也是很大的。

细胞膜受 Na^+ 和 K^+ 刺激的 ATP 酶以一种有向量的或方向性的方式转运 Na^+ 和 K^+ 。R. Whittam 及其同事对红细胞 $\text{Na}^+ \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶所做的经典实验令人信服地证明了这一点。当红细胞在控制的条件下置于蒸馏水中时，它们肿涨起来而其膜通透性增加。结果，它们的内部电解质以及血红蛋白和细胞质的其它蛋白质都漏出而进入周围低渗介质。这些红细胞的制备称为空骸细胞。红细胞的空骸细胞现在可以载负“各种盐类”。例如，当将等渗 NaCl 溶液加入空骸细胞混悬液中，它们皱缩到正常大小而其膜恢复到通常相对不透的状态。这些制备称为“重新构成”或“重新封闭”的红细胞。在重新封闭过程中，

空骸细胞所截留的 NaCl 浓度相当于悬浮介质中 NaCl 的浓度。另一方面，如果在等渗的 KCl 溶液中进行重新构成时，它们就会截留 KCl。这样，重新构成的红细胞内可以载荷着不同浓度的 KCl 或 NaCl，或各种其它盐类，例如 LiCl。此外，如果将 ATP 加入到空骸细胞重新构成所在的盐介质中，这种红细胞也可以载荷 ATP。

Whittam 制备了重新构成的红细胞，在它们里面含有 ATP 和各种浓度的 NaCl 和 KCl。然后，他检查了各种内外浓度的 Na^+ 和 K^+ 对细胞内 ATP 的酶促水解速率和对 Na^+ 、 K^+ 转运的效应。当外面的介质含有高浓度的 Na^+ ，而里面的介质含有高浓度的 K^+ 时，这种情况与血液正常完整红细胞中存在的相似，则细胞内 ATP 的水解速率相当低。相反，当外面介质含有高浓度 K^+ 而里面介质含有高浓度的 Na^+ 时，则细胞内 ATP 的水解速率高。如果外面和里面的介质只含 Na^+ （或只含 K^+ ），所引起的 ATP 的水解很少。

第二个重要的观察正如 Skou 所假定的，在细胞内 ATP 水解时， Na^+ 和 K^+ 都朝着预料的方向越过红细胞膜。如果在引起 ATP 最大水解的情况下即细胞内 Na^+ 浓度高而细

胞外 K^+ 浓度高，则当细胞内 ATP 水解时， Na^+ 移出细胞而 K^+ 移入细胞。此外，也已发现重新构成的红细胞的空骸细胞只利用细胞内的 ATP；而不能利用细胞外的 ATP。

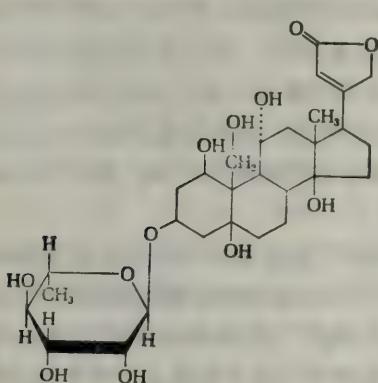


图 28-9 G 毒毛旋花子苷，一种 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的抑制剂。

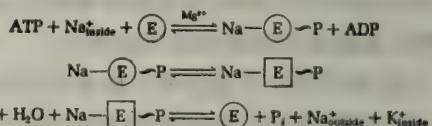
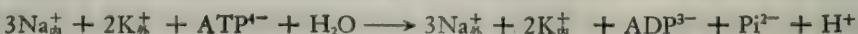


图 28-10 一个假定的由 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶转运 Na^+ 和 K^+ 的机制，ATP 酶分子被认为是在两种选定的 O 和 □ 形式之间发生构象变化，G 毒毛旋花子苷抑制 $\text{Na}^-(\text{E})-\text{P}$ 的依赖 K^+ 的水解作用。

在红细胞的空骸细胞上所做的实验也使得我们有可能去研究 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性的专一性和化学计量学。例如，细胞外 K^+ 可以被 Rb^+ 、 NH_4^+ 或某些其他单价阳离子所代替，但细胞内 Na^+ 则是 ATP 酶所绝对必需的，因此 ATP 酶被视为主要起着 Na^+ 泵的作用。ATP 可以被 dATP、CTP 和 ITP 所代替，但这些核苷酸的活性远小于 ATP。已经能够测量出水解每分子 ATP 所转运的 K^+ 、 Na^+ 量。在红细胞内每水解一分子 ATP 可逐出 3 个 Na^+ 而蓄积 2 个 K^+ 。这些比例是相对恒定的，与存在的离子浓度梯度无关。像 Mg^{2+} 一样 ATP 及其水解产物 ADP 和 Pi 留在细胞内。看来， Mg^{2+} 之所以需要，只是因为它是真正的底物—— MgATP^{2-} 复合物的一部分。因此，我们可以给 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶反应写一个向量方程式：



L. E. Hokin 和 R. L. Post 实验室中在细胞膜小泡或“溶解了的” $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶制备上所进行的实验已经证明，通过将 ATP 上用 ^{32}P 标记的末端磷酸基转移到 ATP 酶分子上形成一个暂时性的磷酸酶中间物。 ^{32}P 转移到酶上需要 Mg^{2+} 和 Na^+ 的存在，但必须没有 K^+ 。因此，当将 K^+ 加入 ^{32}P 标记的 ATP 酶制备时，同位素被排出而以无机磷酸的形式出现。从这些和其他的一些发现已假定出一个由 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶促进的转运反应的两步机

制。(图 28-10)

磷酸-酶中间物的性质和已知的酰基磷酸(像 3-磷酸甘油酰磷酸)的性质相似。在酶促降解用³²P 标记的酶时 Post 及其同事发现酶的一个天冬氨酸侧链在其游离的 β -羧基上磷酸化。(图 28-11)

特别有趣的是 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的总体活性是可逆的。I. M. Glynn 证明当红细胞的空核细胞载荷着 ADP 和磷酸而不是 ATP 时,而且膜内为高浓度 K^+ ,膜外为高浓度 Na^+ ,则 K^+ 流出细胞而 Na^+ 流入细胞,并由 ADP 和磷酸生成 ATP。因此红细胞膜两侧的 Na^+ 和 K^+ 的电化学梯度可以促进 ATP 的合成,正如线粒体膜或叶绿体膜两侧 H^+ 的电化学梯度促进 ATP 的合成一样。

各种组织的 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶,特别是肾髓质、脑和电器官的 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶,已可用去垢剂增溶并可提纯一百倍以上。 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的分子量约 250,000 至 300,000,含有两种不同类型的亚基,较大的亚基分子量约 100,000 至 130,000,较小的亚基约 50,000。大的亚基是当 ATP 水解时分子中被磷酸化的一部分。由于它有与 Na^+ 、 K^+ 、ATP 和 G 毒毛旋花子苷相结合的位点,大的亚基似乎延伸至细胞膜的整个厚度,其与 K^+ 和 G 毒毛旋花子苷结合的位点在膜的外表面,而与 Na^+ 和 ATP 结合的位点在膜的内表面。 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的较小亚基是一种糖蛋白,含有唾液酸以及葡萄糖、半乳糖和其它己糖残基。在某些组织中,ATP 酶含有两个大亚基和一个小亚基。似乎 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶也需要或含有某些脂类。

某些细胞中的 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶利用细胞呼吸能的大部分。例如,发现 G 毒毛旋花子苷抑制肾细胞或脑细胞的呼吸约 70%。因为细胞只在一旦需要使需能功能中用去了的 ATP 再生时才消耗氧,因此可得出结论,肾脏和脑细胞为了泵 Na^+ 和 K^+ 的目的而用去 ATP 产量的约 70%。

脊椎动物葡萄糖和氨基酸的主动转运

葡萄糖逆浓度梯度转运过小肠的上皮细胞层是糖类由肠道吸收人血液的过程的一部分。葡萄糖也是逆浓度梯度通过肾小管上皮细胞层从小球滤液转运人血液的;因此葡萄糖在正常情况下不在尿中排泄而是被补救并保留于血流中。虽然对肠和肾的葡萄糖转运系统的底物专一性做过一些研究,但对葡萄糖转运的分子机制所知甚少。然而,一个有意义的发现是葡萄糖的转运似乎与 Na^+ 的转运相偶联;当 Na^+ 进入细胞的向内梯度大时,向内转运葡萄糖也最适宜。

人们已经假设了一个葡萄糖转运与 Na^+ 运动的关系的有趣模型(图 28-12)。这个模型提出葡萄糖通过与一种专一的载体分子结合而进入细胞,这个载体分子大概在其第二位点也能同 Na^+ 结合。因此这个载体分子可以促进 Na^+ 和葡萄糖同时而强制的运入细胞;这一过程称为共同转运或共搬运。如果细胞外 Na^+ 浓度比细胞内浓度高得多,此载体结合的 Na^+ 便倾向于顺着 Na^+ 梯度而向内移动。由于这个载体也必须和葡萄糖结合才能起作用, Na^+ 顺梯度向内转运便可“拖着”葡萄糖进入细胞。为此只要 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶所产生的 Na^+ 的向内梯度超过葡萄糖的向外梯度,葡萄糖便可以逆葡萄糖梯度而被蓄积。

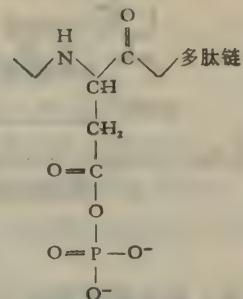
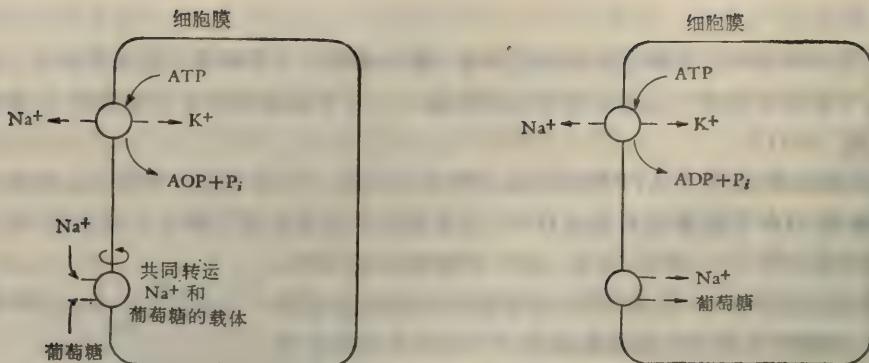


图 28-11 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性部位上的磷酸天冬氨酸残基。由 ATP 供给的磷酸基在下端。



$\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶消耗 ATP 时将 Na^+ 泵出细胞, 建立一个向内的 Na^+ 梯度。

这样生成的向内的 Na^+ 梯度借被动载体(它有两个结合位点, 一个与 Na^+ , 另一个与葡萄糖)“拖着”葡萄糖进入细胞。

图 28-12 葡萄糖转运与 Na^+ 梯度偶联的假定机制

起来。转运葡萄糖进入细胞所需要的能量是由 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶所产生的 Na^+ 的向内梯度来供给的。大量证据支持肠内葡萄糖转运的这个模型。

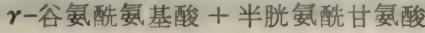
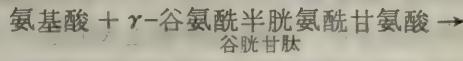
氨基酸的主动转运表现出与葡萄糖的主动转运有许多类似之处。在肠上皮内氨基酸转运是特别显著的, 它起着在肠内吸收氨基酸入血流的作用。氨基酸转运也发生在肾小管, 在此它起着从小管尿补救氨基酸并将之保留在血流中。根据各种氨基酸转运的动力学和根据各种氨基酸之间对转运的竞争的一些研究, 已推断出有五种或五种以上不同的氨基酸转运系统, 其中每一种可以转运一组密切相关的氨基酸。已经发现一些对以下各类氨基酸有专一性的转运系统: (1) 小分子中性氨基酸; (2) 大分子中性氨基酸; (3) 碱性氨基酸; (4) 酸性氨基酸, 以及(5) 亚氨基酸脯氨酸。这些转运系统的每一种, 都具有一个最适 pH 和对其底物的专一的 K_m 值为特征。它们可以被某些氨基酸类似物竞争性地抑制。

和葡萄糖转运一样, 在某些种类的细胞向内转运氨基酸需要细胞外 Na^+ 。细胞外 Na^+ 浓度愈高, 氨基酸转运系统转运氨基酸入细胞的能力就愈大。这些观察引导出一个假说, 即如上面在葡萄糖转运中所描述的, 顺 Na^+ 梯度进入细胞所固有的能量是氨基酸逆梯度向内转运的直接推动力。

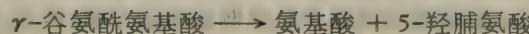
氨基酸转运的 γ -谷氨酰循环

A. Meister 及其同事对转运氨基酸入某些动物组织细胞的机制提出了一个有趣而新颖的假说—— γ -谷氨酰循环。这是一个基团易位作用的例子, 其中被转运的底物以各种化学形式出现于细胞内。 γ -谷氨酰循环涉及一个六个酶的系列, 其中的一个是结合在膜上的; 其余的均存在于细胞溶质中。这个循环中也包括三肽谷胱甘肽 (γ -谷氨酰半胱氨酸), 它在所有动物组织中存在的浓度都很高 (5mM), 但其主要生物学功能还是一个多年来未解决的问题。

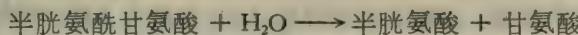
在此循环运转中 (图 28-13) 结合在膜上的 γ -谷氨酰转移酶起着关键的作用。它催化下列反应, 引起谷胱甘肽的谷氨酰残基转移到进来的氨基酸上去。



在此反应中不仅谷胱甘肽而且某些其它 γ -谷氨酰肽类也能起 γ -谷氨酰基团供体的作用；加之，除脯氨酸外所有常见氨基酸都能接受 γ -谷氨酰基。参与这一反应的游离氨基酸来自细胞外，而谷胱甘肽则来自细胞内。继此反应之后， γ -谷氨酰氨基酸像半胱氨酰甘氨酸一样释放入细胞溶质内。在下一步中 γ -谷氨酰氨基酸在一个由一种细胞溶质酶 γ -谷氨酰环化转移酶所催化的反应中分裂生成游离氨基酸和 5-羟脯氨酸：

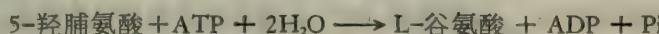


然后，假定半胱氨酰甘氨酸通过肽酶的作用发生水解：

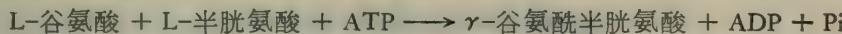


因此，在消耗谷胱甘肽肽键水解的能量下，一分子的氨基酸被转运入细胞。

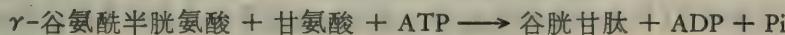
如果这个过程继续下去，所需要的谷胱甘肽必须从游离的半胱氨酸、游离的甘氨酸和 5-羟脯氨酸再生成。谷胱甘肽的形成是通过一个包含三个反应的反应序列来完成的。这个反应序列是由 K. Bloch 首先发现的。首先 5-羟脯氨酸通过 5-羟脯氨酸酶的作用转变为 L-谷氨酸：



在下一步骤中，如此形成的 L-谷氨酸通过 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶的作用与 L-半胱氨酸起反应：



在最后一步中，通过谷胱甘肽合成酶的作用，甘氨酸结合到 γ -谷氨酰半胱氨酸上而生成谷胱甘肽：



如此形成的谷胱甘肽即时准备参与另一圈循环。因此，通过这一机制将每一分子氨基酸带入细胞要用去三个 ATP 的末端磷酸键。

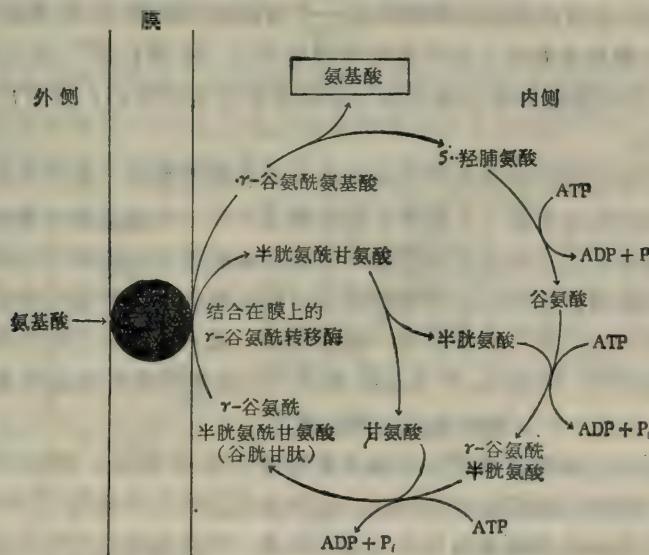


图 28-13 γ -谷氨酰循环，一个假定的转运氨基酸的基团易位机制。

这个循环的所有酶类均以高浓度存在于氨基酸转运活跃的许多组织中。某些大概在 5-羟脯氨酸酶方面有遗传性缺陷的人，则在尿中排出 5-羟脯氨酸。这种病人在氨基酸转

运和代谢方面表现失常。有趣的是氨基酸转运需要 Na^+ , γ -谷氨酰转移酶达到最适活性也需要它。

动物细胞中 Ca^{2+} 的细胞内转运

细胞内主动转运过程的一个重要例子是 Ca^{2+} 依赖于 ATP 从肌浆转运入肌浆网，这一过程与肌肉松弛有关。它是通过存在于肌浆网膜内的 Ca^{2+} -转运 ATP 酶系统的作用而发生的。W. Hasselbach 以及其他研究者用从骨骼肌微粒体部分获得的重新封闭的膜质小泡深入地研究了这个系统。这种小泡消耗由 ATP 水解为 ADP 和磷酸所产生的能量向内转运 Ca^{2+} 。 Ca^{2+} -ATP 酶系统对 Ca^{2+} 有极高的亲和力，能够逆很高的梯度转运 Ca^{2+} 。每水解一个 ATP 分子可转运两个 Ca^{2+} 进入小泡。

动物细胞的线粒体也进行主动的细胞内 Ca^{2+} 转运。线粒体能逆很陡的梯度蓄积 Ca^{2+} 并有高的亲和力，能量由电子传递供给。人们认为在线粒体的依赖能量的摄取 Ca^{2+} 与不依赖能量的释放 Ca^{2+} 之间的平衡对调节细胞溶质中正常的非常低浓度的 Ca^{2+} (约 0.1 至 $1.0 \mu\text{M}$) 是一个重要的因子。细胞溶质 Ca^{2+} 浓度在调节许多细胞活动上是一个重要因素。

细菌内的主动转运系统

在细菌内主动转运系统的研究方面已有了很大的进展。细菌的转运系统效力非常高，这和细菌的代谢率很高(与真核细胞相比)是一致的。细菌还有容易对其进行转运系统的遗传学分析的好处。此外，已设计了简单的方法以从细菌获得膜小泡。在分离细菌的基团易位系统以及糖和氨基酸的主动转运系统的专一性蛋白质成分方面有显著的进展。

从细菌分离转运蛋白质方面取得的第一个重要成就是由 C. F. Fox 和 E. P. Kennedy 从适应于转运 β -半乳糖苷的大肠杆菌细胞膜提取出“M-蛋白质”。他们证明此蛋白质(虽然是以 N-乙基马来酰亚胺衍生物这种非活性形式分离出来的)含有识别 β -半乳糖苷并与之结合的位点。

另一重要的进展是与细菌的外周胞质结合蛋白质的发现一并得来的。细菌细胞的外周胞质间隙中有特性地含有一个或多个能够和某些专一性氨基酸或糖结合的专一性蛋白质。外周胞质间隙是正好围绕在细胞膜外面而在细胞壁里面的那个间隙。置于低渗介质中的某些细菌的渗透性休克引起外周胞质蛋白质的释放。从释放的物质分离出大量能和某些氨基酸、糖和无机离子结合的专一性蛋白质。第一个研究了的外周胞质结合蛋白质——硫酸结合蛋白质，已由 A. B. Pardee 及其同事高度提纯并结晶出来。其分子量为 32,000。每分子含有一个与硫酸盐结合的位点。

已经分离出与大多数普通的氨基酸以及与葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、核糖和其它糖类相结合的专一性外周胞质结合蛋白质。这种蛋白质的分子量为 22,000 至 42,000，易溶于液体系统中。其中的某些蛋白质在与它们的专一的配基相结合时改变构象。

大量的证据提示外周胞质结合蛋白质参与主动转运机制。从细菌细胞释放结合蛋白质通常伴有转运活性降低。结合蛋白质的底物专一性通常与完整细胞转运过程的底物专一性相同。此外，对某底物是转运阴性的某些突变种含有对该底物结合有缺陷的结合蛋

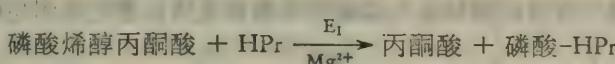
白质。这些证据提示外周胞质结合蛋白质是膜结合转运系统的可解离的成分，含有对底物专一的底物识别位点。人们也认为它们是趋化学性的受体位点，细菌通过这种趋化学性能识别出营养物质，并通过鞭毛运动把自己朝营养物质浓度增高的方向推进。

糖基团易位人细菌

细菌中有两种普通类型的糖转运系统，有时对同一物种有两种转运系统存在。一种促进糖的基团易位过膜，致使糖以一种不同的化学形式进入细胞质，而另一种则促进糖主动转运入细胞，糖分子显然没有经过化学修饰。

在一系列重要的研究中，S. Roseman 和 W. Kundig 对运送糖入某些细菌的过程进行了生物化学的和遗传学的分析。这一转运过程是经由一种称之为磷酸转移酶系统(PTS)的基团易位系统来进行的。对这个系统的研究大部分是在大肠杆菌、鼠伤寒杆菌和金黄色葡萄球菌上进行的。在许多兼性细菌和光合细菌发现了这种系统，但看来在严格的需气菌中无此系统。其性质随物种不同而有些变化。PTS 的所有基本成分已分离并提纯。磷酸转移酶系统包含 3 种蛋白质或蛋白复合物。其中两种称为酶 I 和 HPr。正常存在于细胞质中，第三种称为酶 II，位于细胞膜内。酶 II 含有两种可分离的成分，它们可能是不同的亚基。

经磷酸转移酶系统发生的反应可概括为两个方程式。第一个，细胞质蛋白质 HPr 消耗磷酸烯醇丙酮酸而磷酸化，这一反应由酶 I 所催化。



此反应在两个方面是异乎寻常的。(1)它利用磷酸烯醇丙酮酸为磷酸的直接供体，而大多数生物的磷酸化作用则需要 ATP 或某些其他三磷酸核苷作为磷酸供体。(2) HPr 蛋白质分子在其两个组氨酸残基之一的咪唑环氮原子 1 上磷酸化(图 28-14)。HPr 已高度提纯，

并且其分子量只有 9,400。

在膜内进行的第二个酶促反应中，磷酸化的 HPr 把它的磷酸基供给正在被转运的糖。此反应由结合在膜上的酶 II 所催化。如果被转运的糖为葡萄糖，则反应的产物为葡萄糖 6-磷酸。

$\text{磷酸-HPr} + \text{葡萄糖} \xrightarrow{\text{E}_{II}} \text{HPr} + \text{葡萄糖 6-磷酸}$

在革兰氏阴性细菌，例如大肠杆菌中，酶 II 是称为 IIA 和 IIB 的两种蛋白质或两个亚基的复合物。蛋白质 IIA 具有对糖的特异性；已分离出几种不同的 IIA 蛋白质，每一种蛋白质对某一种糖例如葡萄糖、果糖或甘露糖有专一性。看来，蛋白质 IIB 参与催化磷酸从磷酸化的 HPr 转移到与 IIA 结合的糖上。蛋白质 IIB 分子量为 36,000，

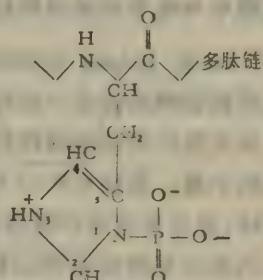


图 28-14 HPr 的 1-磷酸组
氨基残基

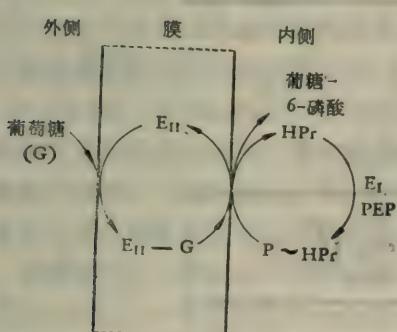


图 28-15 与能量偶联的葡萄糖基团易位通过细菌膜并蓄积葡萄糖 6-磷酸酸。(PEP=磷酸烯醇丙酮酸)

约构成细菌膜蛋白质的 10%。已经证明许多不同的糖——D-葡萄糖和各种葡糖昔、D-半乳糖和各种半乳糖昔、D-果糖、戊糖、戊五醇和己糖醇——在磷酸转移酶系统中可以作为磷酸基的受体。图 28-15 表示由磷酸转移酶系统所进行的假定的糖转运机制。

许多遗传学证据支持这个假说，缺乏酶 I 或 HPr 的细菌突变种不能蓄积任何可转运的糖。另一方面，只缺乏酶 IIA 的一种的突变种则只是对转运某种特殊的糖有缺陷。

已从纯净的成分重新构成了磷酸转移酶系统。以这种方式从细菌细胞分离的膜质小泡缺乏 HPr 和酶 I，不能以它们的磷酸化物的形式来蓄积糖。然后，当将纯净的 HPr 和酶 I 加入小泡时，它们与小泡结合，于是小泡获得蓄积磷酸糖的能力。

大肠杆菌不仅含有糖的基团易位 PTS 系统，而且我们现在即将知道，它还含有一个和呼吸偶联的主动转运糖的系统，在此系统中显然不涉及糖的磷酸化作用。

细菌中与电子传递偶联的糖和氨基酸的转运

H. R. Kaback 及其同事在分析葡萄糖的需能主动转运以及其它糖类进入细菌和电子从底物到氧的能量产生转运之间的偶联方面获得了巨大的进展。他们发现了一种方法，可以从大肠杆菌细胞获得膜质小泡而几乎不混有细胞质和细胞壁的成分。这些小泡都是些空的小囊，直径 0.5—1.5 μM，且正面向外。它们似乎保留了主要的主动转运系统的全部活性，并且也含有呼吸链的脱氢酶类和电子载体，所有这些都是结合在膜结构上的。倘若小泡氧化某些底物例如 D-乳糖、β-羟丁酸或琥珀酸以供给所必须的能量的话，则这种细菌膜质小泡促进许多不同的糖类包括乳糖和其它 β-半乳糖昔、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和葡糖醛酸的主动转运。在这种呼吸小泡中所达到的糖浓度可超过外面介质中糖浓度的一百倍。蓄积的糖以游离形式存在，而在运入膜质小泡的过程中或在运入小泡之后磷酸化。因此，这种依赖于呼吸的糖转运与磷酸转移酶系统所促进的基团易位作用不同。

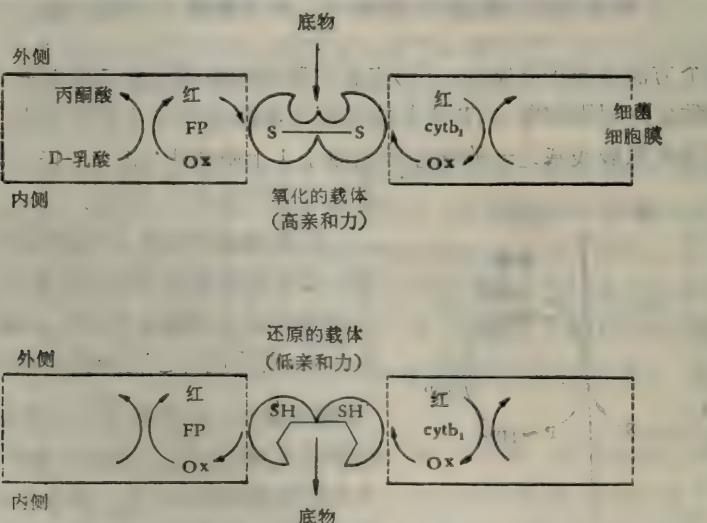


图 28-16 主动转运外面的底物和电子转移的偶联。细菌的呼吸链在膜内。假定电子载体之一是经由它的一SH 和一S—S—基团转移电子，并利用电子转移的能量带着底物过膜，转移系统在其外表面有高的亲和力而在其内表面亲和力低得多；假定两种形式的相互转化与逆浓度梯度的转运有关。

因为寡霉素，一种氧化磷酸化作用的抑制物，不能阻止与 D-乳酸氧化相偶联的糖转

运，电子传递的能量和糖转运机制相偶联显然不需要 ATP 的中间形成。这个结论被下述发现所支持，即从能够进行电子传递但不能进行 ADP 的磷酸化作用的某些突变种得来的膜质小泡仍然能够转运糖类。从细菌得来的膜质小泡能够以一种非常相似的方式蓄积大多数的普通氨基酸，这种蓄积氨基酸的方式是与从 D-乳酸或某些其他底物经电子传递链将电子传递给氧的过程相偶联的。

现在关键的问题涉及到利用电子传递的能量以驱使糖和氨基酸逆(在某些情况下)相当陡的浓度梯度主动运入小泡的机制。这儿发展出两种学派的看法。一个受到 Kaback 有力支持的假说是，在细菌膜呼吸链中的一个或多个电子载体不仅起着转运电子的作用而且起着将糖和氨基酸转运过膜的作用(图 28-16)。Kaback 假定此链中专一性电子载体之一是以二硫化物(氧化的)形式和二巯基(还原的)形式存在。这两种形式也都可以和被转运的物质结合。人们认为这种电子载体的二硫化物形式或氧化型只是在膜的外表面上能够与被转运底物结合的具有高亲和力的形式。而认为这种电子载体的二巯基形式或还原型则以低得多的亲和力在膜的内表面上被转运的底物结合。因此载体的氧化型的高亲和力从外面的介质获取底物分子，而当载体分子被来自电子供体 D-乳酸的电子还原时，它便发生构象变化使亲和力大大降低，从而在小泡的内表面卸下被转运的底物。能够封闭-SH 基的试剂也能阻止主动转运这一事实提示在糖和氨基酸转运中巯基有专一的作用。

Kaback 假说提出从电子供体每传递一对电子到氧就有一个底物分子被运进小泡。然而，已经指出在克分子基础上乳酸氧化的速率在任何地方都比糖或氨基酸转运的速率要大 10 至几百倍。

P. Mitchell、F. M. Harold 及其他研究者提出在细菌电子传递和向内转运糖和氨基酸之间的能量偶联机制的另一别的假说。他们假定细菌的糖转运是通过化学渗透偶联来完成的，就像最初为氧化磷酸化和光合磷酸化所作的假定那样。

化学渗透假说提出电子传递在膜的两侧产生一个 H^+ 的电化学梯度，这个电化学梯度是由外侧的 H^+ 梯度和内侧的负膜电位所组成的。这个梯度称为质子运动梯度，人们认为它是 ATP 形成以及线粒体和叶绿体的其它需能功能，包括离子转运的直接驱动力。有几项证据支持化学渗透假说是细菌膜质小泡中能量偶联的主要手段。已经证明在这种小泡中电子传递产生膜电位并引起质子的逐出。此外，已发现半乳糖苷的膜载体显然以 1:1 的比例载荷着 H^+ 和半乳糖苷两者通过膜而进入细胞(图 28-17)。当将不能转运电子

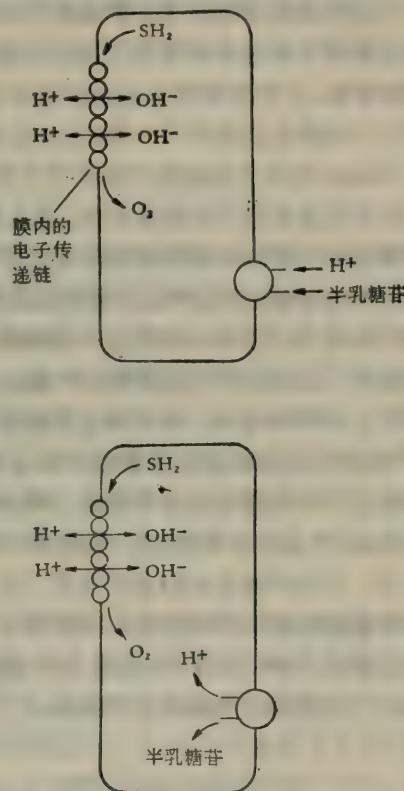
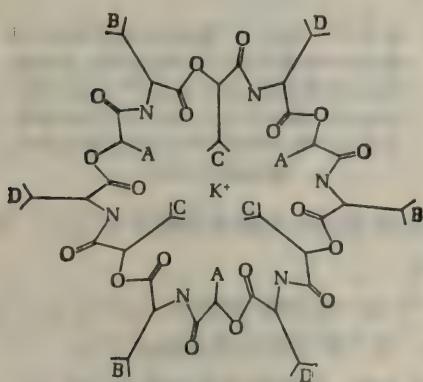


图 28-17 通过 H^+ 和半乳糖苷的专性共同转运将半乳糖苷主动运入细菌细胞。细胞膜内的电子传递链不断地泵出 H^+ ，与电子流从底物(SH_2)到氧相偶联，通过 H^+ 向内的梯度经由与 H^+ 和半乳糖苷两者结合的载体，半乳糖苷被拖入细胞。

的膜质小泡置于含有标记的半乳糖苷的介质中,然后酸化到 pH6.0 以建立一个向内的 H⁺ 梯度时,则半乳糖苷和 H⁺ 一起被运入小泡。T. H. Wilson 及其同事证明 ATP 的水解时由于其生成 H⁺ 梯度的能力也能维持半乳糖苷的转运。

离 子 载 体

已经分离并鉴定了许多能够引起专一离子通过生物膜的抗菌素类物质。在这些抗菌素类物质中首先发现有这个特性的是短杆菌肽，它诱导 K^+ 、 Na^+ 和其它单价阳离子穿过线粒体膜、红细胞膜和合成的磷脂双层膜的转运，而缬氨霉素对诱导 K^+ 转运穿过线粒体膜和其他膜有高度的专一性。这些抗菌素的作用机制已经由 B. C. Pressman, H. A. Lardy P. Mueller 和许多其他研究者进行了深入的研究。缬氨霉素像许多其它离子载体一样，是一种环形或像指环样的化合物，具有疏水的外层和亲水的内层， K^+ 恰好通过配价键装配在内层中。缬氨霉素的疏水外层让带有一个正电荷的缬氨霉素- K^+ 络合物得以溶解于膜结构中的非极性烃层中，从而得以通过之（图 28-18）。因此，这些抗菌素总称为离子载体。另一种对 K^+ 有专一性的离子载体抗菌素为尼日利亚菌素，它与缬氨霉素不同而有一个负电荷；因此尼日利亚菌素- K^+ 络合物实际上不带净电荷。尼日利亚菌素促进 K^+ 与 H^+ 交换，而缬氨霉素则只促进 K^+ 的通过。某些其它的离子载体，例如短杆菌肽，它是一种多肽，是一些长条形的分子；它们环绕单价阳离子形成一个象缬氨霉素那样的环状结构。某些离子载体对载运二价阳离子，特别是 Ca^{2+} ，很活跃。已经制备出合成的离子载体。

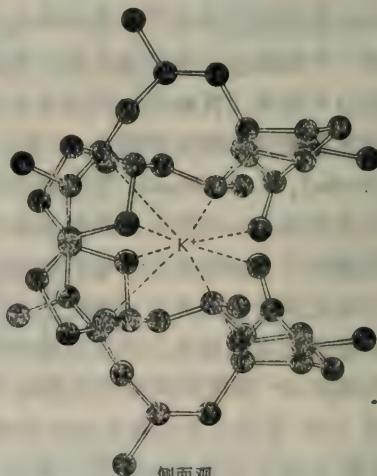


缬氨霉素- K^+ 络合物的结构。A = L-乳酸；B = L-缬氨酸；C = D-羟基异戊酸；D = D-

缬氨酸。无活性菌素 K⁺ 复合物模型的前面观和侧面观



前面观



侧面观

图 28-18 两个 K⁺离子载体络合物的模式结构

对离子载体进行了深入的研究，由于它们不仅对线粒体离子转运和氧化磷酸化有特殊的效应而且是实验分析心与肾的离子转运功能的工具。

离子载体能使阳离子转运穿过合成的磷脂双分子层。研究这种人造的转运系统对生物转运系统所涉及的基本物理原理得出了重要的信息。这些人造转运系统是生物转运系统的重要模型。例如当抗菌素丙甲菌素与磷脂双分子层结合时，能使这个系统在有 K^+ 和 Na^+ 梯度存在和给与电刺激时模拟动作电位。确实，研究离子载体对神经纤维 Na^+ 通道的性质提供了重要的线索。这种 Na^+ 通道是 Na^+ 被动转运系统，在动作电位通过时允许 Na^+ 在瞬时内漏出。这种 Na^+ 通道数量很少但活性很大，对神经活动是非常重要的；它们可被一种日本河豚鱼的剧毒河豚毒素所阻滞。

摘要

在主动转运中，溶质逆浓度梯度运动，这一过程引起自由能的增加。在被动转运或顺梯度运动中，则自由能减少。转运过程中的自由能变化是通过膜的溶质的相对浓度的函数。如果溶质带电荷，则由于这个梯度是物质和电荷两者的梯度而称为电化学梯度。细胞膜含有能够促进生物学上重要溶质通过的转运系统。这种系统有底物专一性，显示与底物的饱和性，可以被竞争性地或非竞争性地抑制，以及可由遗传所决定。底物与膜内一种专一性载体蛋白形成一种复合物，与酶-底物复合物相似。人红细胞的葡萄糖载体是被动载体的一个例子；它可被根皮素和葡萄糖的其它类似物竞争地抑制。动物组织中的其它膜转运系统促进交换扩散，即溶质分子通过膜进行等克分子交换，如线粒体膜的 ADP-ATP 载体。

原生质膜的 Na^+K^+-ATP 酶是高等动物中分布最广的主动转运系统，它从细胞逐出 Na^+ 而让 K^+ 进入细胞。细胞内高浓度 K^+ 是核糖核蛋白体功能、糖酵解、神经作用以及其它许多功能所需要的。 Na^+K^+-ATP 酶作用于细胞内 MgATP；此酶被细胞内 Na^+ 和细胞外 K^+ 所刺激。每分子 ATP 水解为 ADP 和磷酸时则逐出 3 个 Na^+ 而蓄积 2 个 K^+ 转运反应分两步进行。第一步需要 Na^+ ；它导致酶被 ATP 磷酸化并与细胞内 Na^+ 结合。第二步由 K^+ 所刺激，在此步中磷酸化了的酶（含有一个门冬氨酸磷酸残基）被水解将 Na^+ 释放出细胞外。 Na^+K^+-ATP 酶含有两个大的和可能一个小的亚基。

葡萄糖和氨基酸的主动转运系统常需要 Na^+ 的向内梯度作为转运氨基酸进入细胞的能源，这大概是由同一个载体分子共同转运 Na^+ 和底物两者。通过 γ -谷氨酰循环中基团的易位作用，氨基酸也可能被载运穿过某些动物膜。

在细菌的外周胞质间隙中含有许多结合蛋白质，它能选择性地和各种糖、氨基酸或无机离子相结合。这些蛋白质在转运和趋化性中起作用。在细菌中，糖由两种系统所转运。磷酸转移酶系统通过基团易位作用转运简单的糖类而生成细胞内的糖磷酸。此系统的三个蛋白质成分已被分离出来：酶 I、具有糖专一性的酶 II 以及通过由磷酸烯醇丙酮酸转移磷酸而形成的一种高能磷酸化蛋白质 HPr。

需氧菌含有转运糖和氨基酸的第二个系统。它依赖电子传递到氧所产生的能量而无需 ATP 的中间作用。这是一种真正的主动转运过程；底物被转运而无化学变化。

离子载体即可以和某些阳离子如 K^+ 、 Na^+ 和 Ca^{2+} 结合的抗菌素，其中缬氨霉素、短

杆菌肽和尼日利亚菌素都是研究转运的有用工具并可用作生物转运系统的重要模型。

参 考 文 献

书籍

- Christensen, H. N.: *Biological Transport*, Benjamin, Menlo Park, Calif., 1974.
Current Topics in Membranes and Transport, Academic, New York. An annual volume of reviews, initiated in 1970.
Greenberg, D. R. (ed.): *Metabolic Transport*, vol. 6 of *Metabolic Pathways*, 3d ed., Academic, New York, 1972.
Harris, E. J.: *Transport and Accumulation in Biological Systems*, 3d ed., Butterworth, London, 1972.
Stein, W. D.: *Movement of Molecules across Cell Membranes*, Academic, New York, 1967. An excellent account of the theory and function of membrane transport systems.

论文

- Boos, W.: "Bacterial Transport," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 123—146 (1974).
Christensen, H. N.: "Linked Ion and Amino Acid Transport," pp. 393—422 in E. E. Bittar (ed.), *Membrane and Ion Transport*, Interscience, New York, 1970.
Dahl, J. L., and L. E. Hokin, "The Sodium-Potassium ATPase," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 327 —356 (1974).
Epstein, E.: "Mechanisms of Ion Transport through Plant Cell Membranes," *Int. Rev. Cytol.*, 34: 123—168 (1973).
Fickel, T. E., and G. C. Gilvarg: "Transport of Impermeant Substances in *E. coli* by Way of Oligopeptide Permease," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 70: 2866—2869 (1973).
Fox, C. F., and E. P. Kennedy: "Specific Labeling and Partial Purification of the M Protein, a Component of the β -Galactoside Transport System of *E. coli*," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 54: 891—899 (1965).
Harold, F. M.: "Conservation and Transformation of Energy by Bacterial Membranes," *Bacteriol. Rev.*, 36: 172—230 (1972).
Hayden, D. A., and S. B. Hladky: "Ion Transport across Thin Lipid Membranes," *Q. Rev. Biophys.*, 5: 187—282 (1972). This review also contains much information on ionophore antibiotics.
Hazelbauer, G. L., and J. Adler: "Role of the Galactose Binding Protein in Chemotaxis of *E. coli* toward Galactose," *Nature New Biol.*, 230: 101—104 (1971).
Kaback, H. R.: "Transport across Isolated Bacterial Cytoplasmic Membranes," *Biochim. Biophys. Acta*, 265: 367—416 (1972).
Kashket, E. R., and T. H. Wilson: "Proton-Coupled Accumulation of Galactoside in *S. lactis* 7962," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 70: 2866—2869 (1973).
Kyte, J.: "Properties of the Two Polypeptides of Na^+ and K^+ Dependent Adenosine Triphosphatase," *J. Biol. Chem.*, 247: 7642—7649 (1972).
Meister, A.: "On the Enzymology of Amino Acid Transport." *Science*, 180: 33—39 (1973). Proposal of the γ -glutamyl cycle for amino acid transport.
Mitchell, P.: "Translocations through Natural Membranes," *Adv. Enzymol.*, 29: 33—88 (1967), A review of fundamental processes and concepts of membrane transport.
Mitchell, P.: "Reversible Coupling between Transport and Chemical Reactions," pp. 192—256 in E. E. Bittar (ed.), *Membrane and Ion Transport*, Interscience, New York, 1970.
Pardee, A. B.: "Membrane Transport Proteins," *Science*, 162: 632—637 (1968). A brief review article.
Post, R. L., and S. Kume: "Evidence for an Aspartyl Phosphate Residue at the Active Site of Na^+ and K^+ Adenosine Triphosphatase," *J. Biol. Chem.*, 248: 6993—7000 (1973).
Roseman, S.: "Carbohydrate Transport in Bacterial Cells," pp. 41—88 in D. R. Greenberg (ed.), *Metabolic Pathways*, 3d ed., vol. 6, Academic, New York, 1972.
Schultz, S. G., and P. F. Curran: "Coupled Transport of Sodium and Organic Solutes," *Physiol. Rev.*, 50: 637—718 (1970).
West, I., and P. Mitchell: "Stoichiometry of Lactose-Proton Symport across the Plasma Membrane of *E. coli*," *Biochem. J.*, 132: 587—592 (1973).

习题

1. 利用图 28-2 中的资料计算在 37℃ 时由血浆转运 1 克离子 K^+ 到肌肉的细胞内液所需要的自由能的量。
2. 计算通过 Na^+ 转运 ATP 酶水解 ATP 为 ADP 和磷酸平衡时在理论上所能达到的 Na^+ 离子浓度的最大梯度。假定是在标准热力学的情况下。
3. (a) 如果需氧细胞的呼吸率为在 37℃ 下每小时每毫克蛋白质为 10.2 微克原子氧, 试计算一个需氧细胞氧化葡萄糖时摄取 K^+ 的最大速率。假定 80% 的呼吸能量是用于经 Na^+K^+ -ATP 酶转运 K^+ 的。应用正文中提供的资料。(b) 每分子柠檬酸完全燃烧为 CO_2 和 H_2O 时将从此细胞逐出多少 K^+ 离子?
4. 如果成年人红细胞糖酵解能量的 75% (以 ATP 的形式存在) 专用于来逐出 Na^+ , 则每分子葡萄糖经糖酵解为乳酸时将由 Na^+K^+ -ATP 酶逐出多少 Na^+ 离子?
5. 如果一个红细胞含有 5,000 个分子的 Na^+K^+ -ATP 酶, 则这些酶分子将占细胞膜表面的几分之几? 假定红细胞为一直径 7 微米厚 1 微米的盘状物, 而 ATP 酶分子为球形, 密度为 1.2, 其它必需数据见正文。
6. 试计算膜两侧的最小 pH 差, 此最小 pH 差可以至少是理论上可以支持从 1.0 mM 无机磷酸和 1.0 mM ADP 在 pH7.0 和 25℃ 时形成 1.0 mM ATP。现在试计算在一个平衡浓度为 3.0 mM ATP、0.5 mM ADP 和 3.0 mM 磷酸的系统中生成一分子 ATP 所需要的最小 pH 梯度。

【唐恢玲 译 李学渊 校】

第二十九章 激素作用的生物化学

激素是脊椎动物体内各种内分泌腺制造的微量物质，作为化学信使它们由血液运送到各种靶器官，以调节机体的多种生理和代谢活动。内分泌学研究各种激素及其作用，长期以来，它一直是脊椎动物生理学中一个重要领域。然而，直至本世纪六十年代末期除对某些激素的分子结构的生化研究外，对于激素作用的生化机理即令有所知也微不足道。近几年来，人们对于激素功能所作的分子分析取得了一些重大进展，使对内分泌调节的研究，已从基本上是生物学的叙述领域发展成为生物化学研究的一个重要而又富有成果的部门。

在这一章中，我们将不叙述激素分泌和功能引起生理上和解剖上的后果，而是详细分析少数几种与调节脊椎动物代谢中心途径有关的激素，特别是那几种在生化功能方面已愈来愈清楚的激素。

虽然我们只掌握了两到三种激素作用的生化知识，但对于激素所能调节的生化过程的类别以及它们的调节是如何产生的等方面得到了新的了解。这些事件使我们感到十分乐观的是，我们可能很快就会知道，例如医学上常用的两种激素——胰岛素和甲状腺素——如何产生它们那独特而常常是起死回生的作用。

哺乳动物内分泌系统的组织机构

图 29-1 概括了哺乳动物内分泌系统的组织结构。好几种激素的合成与/或释放都是受分级管制的，涉及激素与靶细胞相互作用的三个连续阶段。当大脑基底部的下丘脑接到专一的神经信号时，它分泌出微量称为释放因子的激素，它们沿着神经纤维而下进入垂体前叶腺体内。每种释放因子在垂体前叶内可引起一种专一激素的释放。例如，促甲状腺素释放因子 (TRF) 能触发促甲状腺激素 (TH) 的释放，而促皮质激素释放因子 (CRF) 则引起促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的释放。下丘脑也分泌称为抑制因子的激素样物质，它们能抑制某些垂体激素的释放。

从垂体前叶释放出来的各种激素(图 29-1)通过血液循环到达专一的靶腺体。ACTH 的靶腺体是肾上腺皮质而促甲状腺激素的靶腺体则为甲状腺。如图 29-1 所示，这些腺体以及其他垂体前叶激素的靶腺体，尤其是性腺，在受到垂体激素刺激后即产生其特有的激素而作用于若干终末靶组织。下丘脑除了分泌多种释放因子和抑制因子作用于垂体前叶以外，至少也产生两种其它激素：即催产素和加压素或称抗利尿激素，它们分别对泌乳和水平衡起重要调节作用。这些激素与一种称为后叶激素运载蛋白的小分子蛋白质结合进入垂体后叶，再由后叶释放入循环血流中去。

不那么直接受垂体控制而影响其释放的激素包括多肽类的降钙素，它由甲状腺和甲状旁腺中某些类型细胞生成，以及甲状旁腺激素，它是调节 Ca^{2+} 与磷代谢的。同属此类型的激素还有胰岛素与胰高血糖素，它们分别由胰腺的特殊内分泌区，即兰氏小岛，亦即胰

岛内的 β -细胞和 α -细胞生成的多肽类物质,以及由肾上腺髓质产生的肾上腺素与去甲肾上腺素。除此处和图 29-1 所列举者外,人们还发现有好几种其它激素控制着多种生理活动。

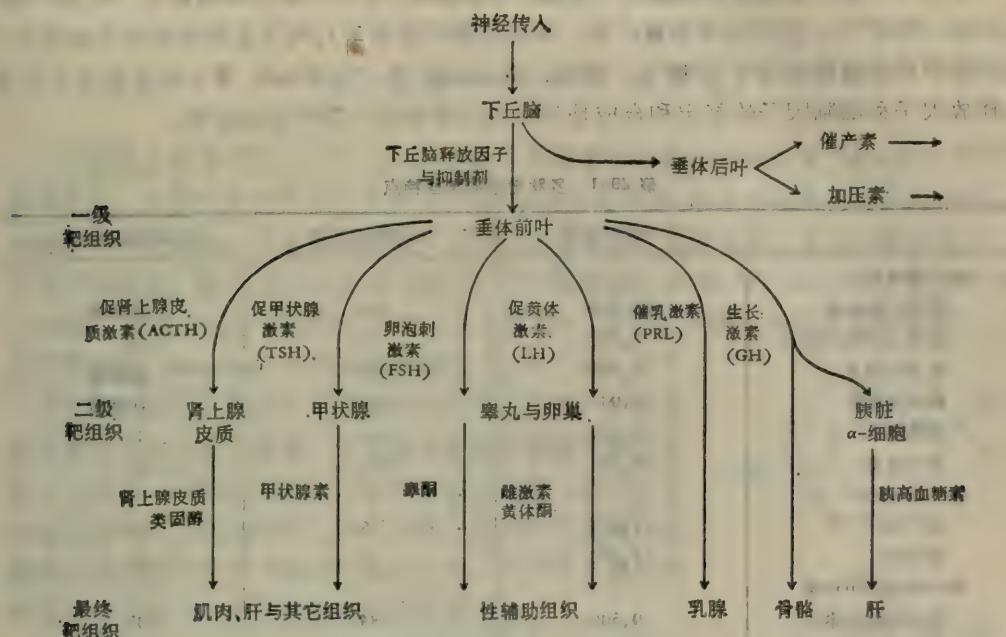


图 29-1 在下丘脑的控制下内分泌腺调节的分级组织

激素的分泌作用是由一个复杂网络所控制的。由神经系统传来的外界刺激调节着下丘脑的活动以及肾上腺髓质分泌肾上腺素的作用。反过来垂体前叶促激素类的分泌作用又受其靶腺体特殊分泌反馈关系的调节。例如,由肾上腺皮质分泌的糖皮质激素在血中的浓度高时可引起垂体分泌 ACTH 的反馈性抑制作用。某些激素的分泌是通过血液中一

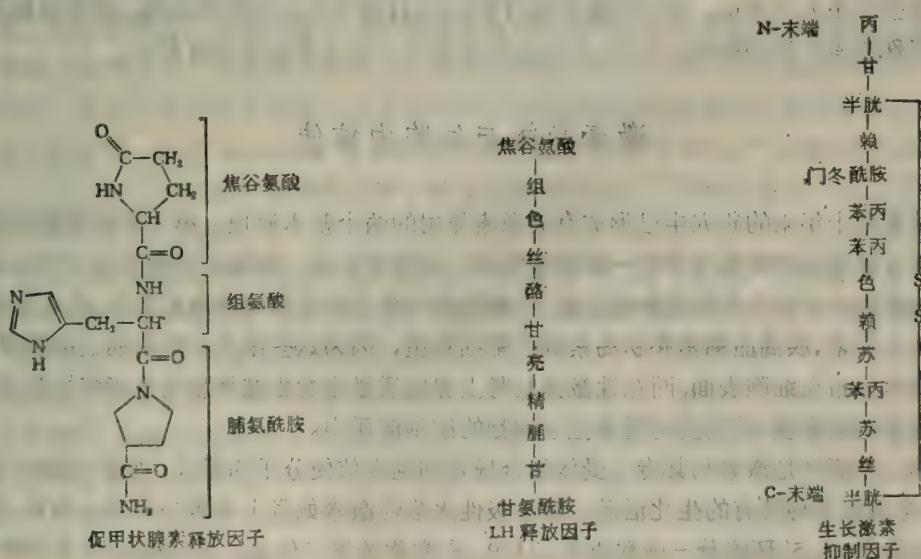


图 29-2 两种下丘脑释放因子与生长激素释放的抑制因子的结构

些专一的代谢物的浓度而调整的。例如，当血液中葡萄糖浓度升高时即刺激胰腺释放胰岛素。此外，血中甲状腺素浓度高即抑制促甲状腺素释放因子在垂体前叶中的作用。

某些下丘脑释放因子和抑制因子都是一些短肽类；它们已被分离和鉴定。图 29-2 中展示出一些例子。它们仅有微量产生，例如从屠宰场取来几吨下丘脑组织却只能得出 1 毫克促甲状腺素释放因子 (TRF)。在 R. Guillemin, A. V. Schally 等人的实验室中对某些释放因子和抑制因子的鉴定和合成是生化内分泌学的一项突出的进展。

表 29-1 多肽激素的某些特点

	分子量近似值	残基数近似值	氨基酸以外的组分
脑下垂体前叶			
促甲状腺激素	28,300	220	寡聚糖
促肾上腺皮质激素	4,700	39	无
促黄体激素	28,500	200	寡聚糖
促卵泡激素	34,000	200	寡聚糖
催乳激素	21,500	191	无
生长激素	21,000	191	无
脑下垂体后叶			
催产素	1,070	9	无
加压素	1,070	9	无
甲状旁腺与甲状腺			
甲状旁腺激素	9,500	84	无
降钙素	4,500	32	无
胰			
胰岛素	5,500	51	无
胰高血糖素	3,500	29	无

脑下垂体前叶激素都是大分子多肽(表 29-1)它们中大多数的氨基酸顺序已经确定，其中有些已用人工合成。饶有兴趣的是 TSH 与 LH 含有完全相同的亚基。在寻求能抑制某些特殊激素作用的药物过程中，人们已经合成了一些这类激素的类似物。

激素受体与细胞内信使

从最近十年来的研究中已形成有关激素作用的两个基本原理。第一个原理是对任何一定激素敏感的靶细胞含有专一的激素受体。这些受体是一些能以很高的专一性与亲和力与该激素分子相结合的特种蛋白质。在靶细胞中仅有极少量这种激素受体。在水溶性激素如肾上腺素、胰高血糖素和胰岛素等的靶细胞里，因为这些激素不容易通过细胞膜，故激素受体分布在细胞表面。而在性激素与肾上腺皮质激素的靶细胞里均系脂溶性类固醇，因此能通过细胞膜，其首要的受体位于细胞的细胞溶质中。

第二个原理是激素与其专一受体结合导致细胞内信使分子的形成，它们刺激(或抑制)该靶组织某种特有的生化活动。对于极性水溶性激素如肾上腺素与胰高血糖素，其细胞内信使即 3', 5' 环腺苷一磷酸或称 cAMP，亦常称为第二信使。对于脂溶性类固醇类，其激素-受体复合物本身就是它们的细胞内信使。

我们现将讨论在中心代谢途径中起主要调节作用的那些激素的结构、生物合成，释放及其作用的方式。我们将从肾上腺髓质分泌的肾上腺素开始，因为，由于研究它对肝脏的作用使我们获得了在分子水平上认识激素作用的第一个重要突破。

肾上腺素与 cAMP 的发现

分泌肾上腺素（图 29-3）进入血液能引发脊椎动物机体作好准备“战斗或逃跑”的一整套反应。这些反应包括血压上升、心率和心输出量增加，以及对某些平滑肌松弛而另一些收缩的特有效应。其最显著的生化后果是肌糖原分解速率大增，生成乳酸以及肝中继发地产生血糖。后一种效应在 20 世纪 50 年代早期就已由 E. W. Sutherland 在体外实验中发现。当他向完整肝组织切片加入肾上腺素时，发现悬浮液中出现游离葡萄糖。从这些观察开始，Sutherland 与其同事主要是 T. W. Rall，作了一系列经典研究以断定肾上腺素作用的生化基础。他们发现完整肝切片与肾上腺素一起保温导致糖原磷酸化酶活性极大地增加。此酶活性在从肝糖原生成葡萄糖过程中似乎起着限速作用。但如将肾上腺素加进分离出的高度纯净的磷酸化酶制剂中时并不能增加酶的活性，说明肾上腺素的激活作用有赖于完整肝细胞提供的某些因素。

对肾上腺素作用做进一步分析需要更完全地了解影响磷酸化酶活性的一些因素。由 C. F. Cori 和 G. T. Cori，由 E. G. Krebs 与 E. H. Fischer 以及由 Sutherland 所作的研究已确定：具有活性的四聚体型式的磷酸化酶 a 可通过磷酸化酶磷酸酶的作用转变成为无活性的二聚体分子磷酸化酶 b，磷酸化酶磷酸酶能从有活性酶的四个磷酸丝氨酸残基上脱去磷酸基。磷酸化酶 b 可以通过磷酸化酶激酶的作用变回为有活性的磷酸化酶 a，磷酸化酶激酶是一种有赖于 Ca^{2+} 的，能催化磷酸化酶 b 上专一的丝氨酸残基磷酸化作用的酶。然而直接试验表明肾上腺素无论对于磷酸化酶磷酸酶或是磷酸化酶激酶的纯制剂都不起作用。但是 Sutherland 与 Rall 却发现在补充了 ATP 和 Mg^{2+} 的粗制破碎的肝细胞制剂中，肾上腺素能促进磷酸化酶 b 转变成磷酸化酶 a。最终发现这一效应是由两个连续事件所产生的结果。第一步，肾上腺素作用于肝中不溶性的颗粒部分，引起能刺激磷酸化酶活性的耐热因子的酶促生成；此反应需要 ATP 与 Mg^{2+} 参加。在也需要 ATP 的第二步中，耐热因子促使肝匀浆可溶部分中的无活性磷酸化酶 b 转变成有活性的磷酸化酶 a。正常情况下仅有微量这种具有活性的激发因子存在于细胞内，它是一种耐热的，能透析出的低分子量物质，能用离子交换树脂层析法加以纯化。最后将它制成晶体并发现它含有腺嘌呤、核糖与磷酸成 1:1:1 的比例。提示它是从形成它时必需的 ATP 中衍生出来的。轻度水解或在磷酸酶作用下，它可生成腺嘌呤核苷酸（AMP）。1960 年此物被鉴定为一种完全意料不到的腺苷酸衍生物，而且在这以前从来没有在生物物质中发现过。它就是 3',5'-环腺苷酸（图 29-4）。在有 ATP 存在时，向可溶性肝提取物中加入极少量 cAMP 可促进从磷酸化酶 b 形成有活性的磷酸化酶 a。

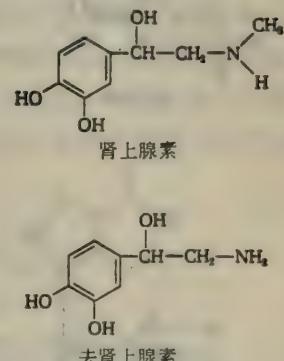


图 29-3 肾上腺素与去甲肾上腺素是在肾上腺髓质中生成的。去甲肾上腺素在神经系统里是一种神经递质。

腺苷酸环化酶,蛋白激酶与磷酸二酯酶

Sutherland 及其同工作者进一步的研究发现肾上腺素极大地激发原生质膜部分中一种有赖于 Mg^{2+} 的酶促作用使 ATP 失去了无机焦磷酸根转化成 cAMP。

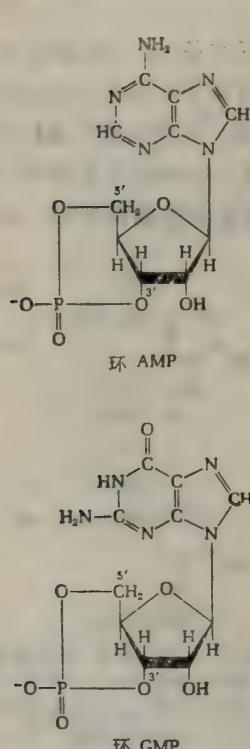
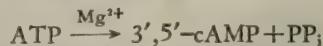
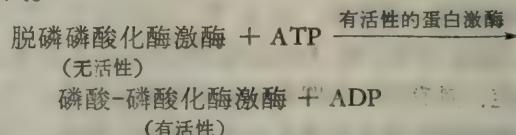


图 29-4 环状 AMP 与环状 GMP 的结构



催化此作用的酶称为腺苷酸环化酶,它存在于许多动物组织中。此酶与原生质膜紧密结合,仅在最近才能够以可溶的形式抽提出来。腺苷酸环化酶对 ATP 有底物专一性。它不能从 ADP 或其它 NTPs 如 GTP 或 CTP 等生成 3',5'-环核苷酸。

cAMP 如何激活一个由磷酸化酶激酶催化的反应使没有活性的磷酸化酶 b 转变成磷酸化酶 a 呢?自从发现了一种原名为磷酸化酶激酶激酶,而现在简称为蛋白激酶的这种酶以后,就为我们提供了缺失的环节。由 Krebs 与 D. A. Walsh 详细研究过的此种酶具有无活性和有活性两种形式。活性的酶以 ATP 为磷酸基供体,通过下列反应催化无活性的磷酸化酶激酶的磷酸化作用以生成具有活性的磷酸化了的形式。



磷酸化酶激酶是一种非常大的蛋白质,它的分子量超过一百万。它含有 16 个亚基,在蛋白激酶的作用下每个亚基的丝氨酸残基,皆由 ATP 使之磷酸化。

蛋白激酶是将 cAMP 与磷酸化酶体系连接起来的一个具有关键性的酶,它是一种别构酶。无活性的蛋白激酶含两类亚基,一为催化亚基 (c),

一为调节亚基 (R),后者对催化亚基有抑制作用。蛋白激酶的别构调节物就是 cAMP,它与调节亚基专一部位结合时,引起无活性的 CR 复合物离解,产生 R-cAMP 复合物与具有催化活性的游离 C 亚基。因此,cAMP 的作用就是消除由于与调节亚基结合而强加于酶活性上的抑制作用。(图 29-5)

蛋白激酶并非只对磷酸化酶激酶有专一的磷酸化作用;它能使许多其它蛋白质磷酸化,诸如某些组蛋白类,核糖体蛋白类、脂肪细胞膜蛋白类以及线粒体、微粒体和溶酶体等的膜蛋白质。对于所有这些情况,蛋白激酶的活性都需要有 cAMP。

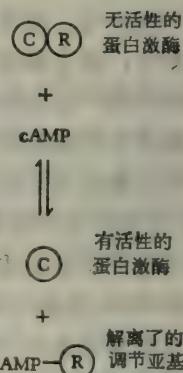


图 29-5 cAMP 激活蛋白激酶。
cAMP 与抑制亚基 R 结合,取代了它,并释放活化形式的催化亚基 C

虽然与肾上腺素结合后肝细胞内的 cAMP 浓度，急剧上升，但是，一旦肾上腺素被移除或破坏，则肝细胞内 cAMP 很快下降到极低水平。破坏 cAMP 的酶就是磷酸二酯酶，它催化下列水解反应



磷酸二酯酶活性也有赖于 Mg^{2+} ，大多数动物组织的可溶性细胞溶质中都有此酶存在。分别存在于咖啡和茶叶中的少量咖啡碱和茶碱等生物碱类具有抑制此酶的特性。长期以来就知道这些药物能延长或强化肾上腺素的作用；这可能是由于受肾上腺素激化的细胞内 cAMP 的持续性延长了的缘故，在某些组织内 Ca^{2+} 能改变磷酸二酯酶的活性。

肾上腺素激发的糖原降解中的放大阶式级联

现在我们可将涉及肝内肾上腺素激发糖原降解成血糖的放大阶式级联的各种组成部分装配起来（图 29-6）。到达肝细胞表面的浓度约为 10^{-8} 到 $10^{-10} M$ 的肾上腺素，和位于肝细胞膜外表面上专一的肾上腺素受体结合。有人认为这种结合可引起膜局部的构象改变，造成分布在细胞膜内表面上的腺苷酸环化酶的激活。活性形式的腺苷酸环化酶将 ATP 转化为 cAMP，后者在细胞内的最高浓度可达 $10^{-6} M$ 左右。由此生成的 cAMP 随即

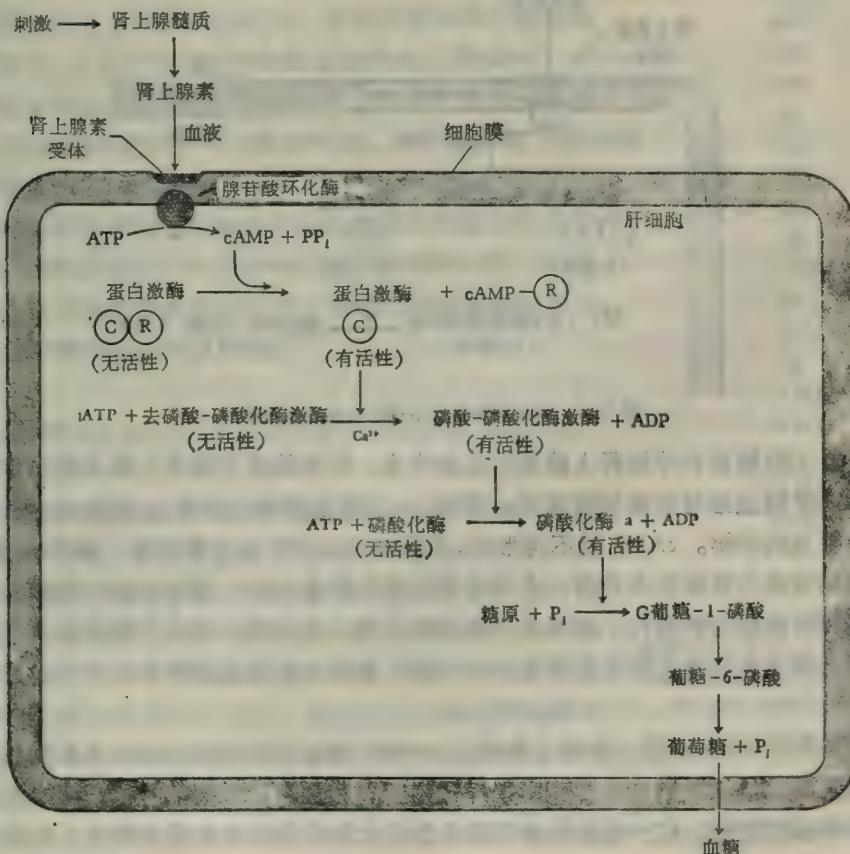


图 29-6 肝细胞中肾上腺素促进糖原分解产生血糖的放大阶式级联，释放到血中的肾上腺素的浓度达到约 $10^{-9} M$ ，结果是血糖浓度增加到约 $5mM$ 。产生的放大约 300 万倍。

与蛋白激酶的调节亚基结合，放出具有活性的催化亚基。然后催化亚基消耗了 ATP 去催化无活性的磷酸化酶激酶的磷酸化作用以生成有活性的磷酸化酶激酶。此酶的活性需要有 Ca^{2+} ，它消耗 ATP 以催化无活性的磷酸化酶 b 的磷酸化而产生有活性的磷酸化酶 a，后者依次催化糖原降解生成葡萄糖 1-磷酸，从它生成葡萄糖 6-磷酸然后形成游离的血糖。

这个阶式级联中的每一步都是催化性的，因而造成对传入信号很大的放大作用，传入信号只有较少数几个肾上腺素分子与肝细胞表面结合。虽然这一阶式级联中有很多个酶作用于酶的步骤，但几秒钟功夫即可达到活性顶峰。

肾上腺素不仅促进糖原降解也抑制肝内糖原合成作用，因而引导全部可以利用的葡萄糖残基及其前身物以制造游离血糖。图 29-7 表明肾上腺素与肝细胞结合以及其后 cAMP 的生成能促使蛋白激酶对有活性的，或脱磷酸型的糖原合酶的磷酸化使其成为磷酸化了的无活性型。糖原合酶分子的六个丝氨酸残基消耗了 ATP 而被磷酸化。如是糖原合酶的抑制就由导致加速糖原分解生成血糖的同一刺激物所触发的一串事件引起的。糖原分解与生物合成的其它方面已在它处论及。

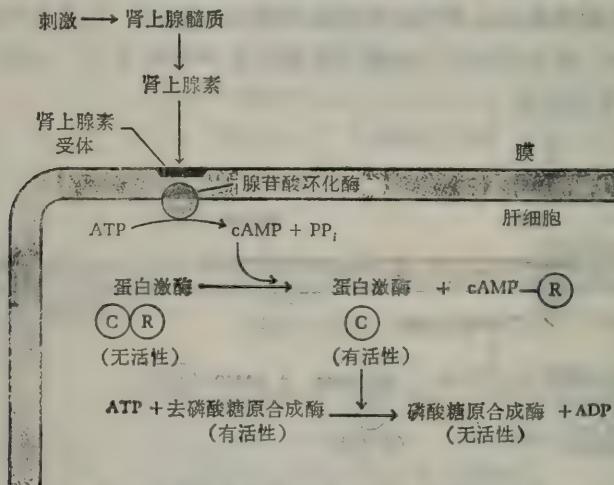


图 29-7 肾上腺素对肝中糖原合成的抑制作用

只要肾上腺髓质仍分泌肾上腺素到血液中去，肝脏的腺苷酸环化酶系统仍保持活化状态则 cAMP 就也维持在高浓度水平。然而，一旦肾上腺素分泌停止，则结合在肝细胞膜上的肾上腺素就离解。cAMP 就不再形成，而留存的 cAMP 也受到磷酸二酯酶的破坏。然后蛋白激酶亚基又重新联合成为一个没有催化活性的复合物。通过磷酸化酶磷酸酶的作用，磷酸化酶激酶的磷酸化了的形式以及磷酸化酶 a 自己然后就进行脱磷酸化作用。就这样糖原分解系统恢复正常休息状态；与此同时，糖原合酶通过脱磷酸化作用而重新得到激活。

除能作用于肝脏外，肾上腺素也能通过 cAMP 激活糖原磷酸化酶促进骨骼肌中糖原分解生成乳酸。肾上腺素也能激活脂肪细胞内一种脂肪酶使三酰基甘油分解成游离脂肪酸与血清白蛋白结合。这一效应是通过腺苷酸环化酶的激活与有活性的蛋白激酶的生成实现的，有人认为此酶能对有活性的三酰基甘油脂肪酶的无活性前身物进行磷酸化。此外，肾上腺素对心率与输出量的特征性效应也是通过专一的儿茶酚胺受体作媒介形成 cAMP

而产生的。然而，心脏糖原不是转变成血糖而是变成乳酸。心脏与骨骼肌缺乏葡萄糖 6-磷酸酶。心肌的肾上腺素受体已经分离且高度净化。

胰高血糖素

肾上腺素之外还有许多种能在专一靶细胞内增加 cAMP 浓度的其它激素。其中之一是胰高血糖素，亦称为高血糖-糖原分解激素。胰高血糖素是胰脏一种多肽激素，每当血糖水平下降到低于正常值每 100 毫升 80 毫克时，胰岛 α -细胞就分泌它到血液中。这样释放出来的胰高血糖素引起肝内肝糖原降解恢复血糖到正常水平。因此，胰高血糖素与胰岛素的作用颉颃平衡。当血糖含量高时，则胰岛素分泌进入血液促使周围组织从血中移去葡萄糖。胰高血糖素与胰岛素是胰脏两种不同类型的细胞分泌的对血糖有相反效应的激素。胰高血糖素是一种含有 29 个氨基酸残基的多肽（图 29-8）。它是以一种称为胰高血糖素原的分子量较高无活性的前身物形式合成的，胰高血糖素原在胰高血糖素链的 C-末端上含有外加的氨基酸残基。（图 29-8）

胰高血糖素主要作用于肝脏，而对肌肉中糖原降解无效，肾上腺素则促进两者中的糖原降解。和肾上腺素一样，胰高血糖素也是通过与肝细胞膜上的专一的胰高血糖素结合位点结合并造成对腺苷酸环化酶的刺激作用而发挥它的作用的。所产生的 cAMP 的增加引起肝中磷酸化酶 α 浓度的增加，这是通过前面描述的肾上腺素作用中发生的同一序列放大步骤而达成的。

以 cAMP 为媒介的其它内分泌和调节系统

现在已经知道有许多其它激素能使它们的靶组织内的 cAMP 浓度增加，这可能是由于它们与靶细胞表面上专一受体位点结合而激发了与膜结合的腺苷酸环化酶。属于这一类的有脑下垂体前叶激素类 ACTH、LH、FSH 与 TSH（图 29-1），还有甲状旁腺激素与降钙素。脑下垂体后叶的加压素在肾脏中能增加 cAMP。虽然很多种激素都是通过刺激 cAMP 的生成而起作用，但每种激素各有其专一的作用，因为它只在含有对此激素有专一性的表面受体的细胞里才能刺激 cAMP 的形成。而且 cAMP 保留在受到激活的细胞内并不逸入血流引起所有细胞的普遍兴奋。虽然 cAMP 似乎在许多激素作用中充当第二信使，但我们仅对肾上腺素和胰高血糖素作用于肝的情况中的调节过程中一整串事件有一个清楚的生化图纸。如上所述，肾上腺素激活脂肪组织中的三酰基甘油脂酶。胰高

N-末端
组丝
谷甘
苏丙
苯丙
苏丝
门冬
酪10
丝赖
酪亮
门冬
丝精
精丙
谷20
门冬丙
苯丙
缬谷
色亮
蛋
门冬酰胺
苏
赖30
精
门冬酰胺
门冬酰胺
赖
门冬酰胺
异亮
丙
C-末端

图 29-8 牛胰高血糖素的氨基酸顺序(29 个残基；分子量 4,500)。
胰高血糖素的前身物，胰高血糖素原，在 C 末端多八个残基。

糖素、ACTH、与促甲状腺激素(TSH)等也都有这种作用，它们在脂肪组织中都能增加cAMP的生成因而激动了脂肪酶。

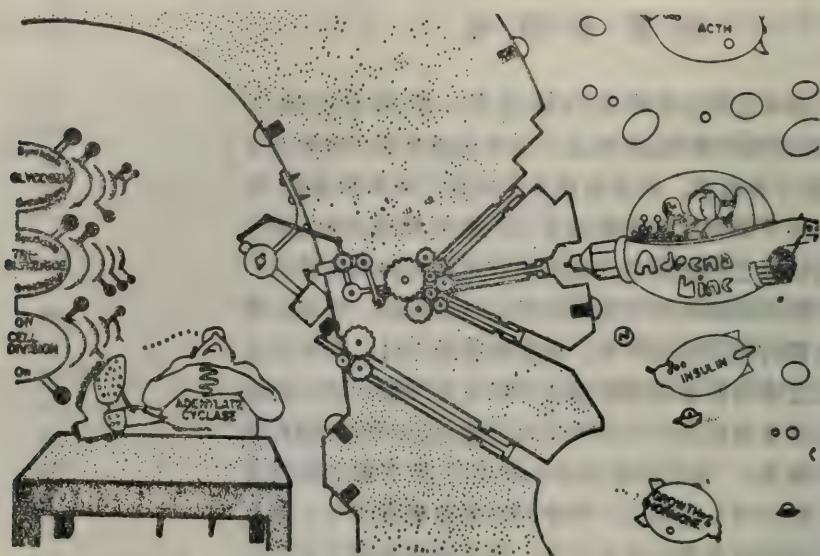


图 29-9 外来的信息正将激发第二信使去行动了。(引自 J. B. Finean, R. Coleman, and R. H. Michell, Membranes and Their Cellular Functions, 1974)

我们将知道 cAMP 也是细胞内其它类型调节系统中一种专一介质或信使。它介人了酶的诱导生成，参与神经系统的突触传导，调节细胞分裂，同时也是包括变态反应在内的组织免疫反应以及炎症反应的介体。霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 毒素引起强烈腹泻并从肠道丧失大量液体，它在肠细胞中与专一受体结合，引起 cAMP 的形成并保持它们的高水平，这又依次在肠细胞内产生主动运输过程的病理性加速作用。

cAMP 在各种细胞内的功能可受到游离 Ca^{2+} 和不同的前列腺素这两种细胞成分极大的影响。 Ca^{2+} 在某些情况下提高了 cAMP 的作用而在另一些情况下又抑制它。有人认为前列腺素 E_1 在某些靶细胞内作为细胞表面激素受体和与膜结合的腺苷酸环化酶之间的中间信使。与此相反，前列腺素 A_1 通过与酶上专一位点的结合而抑制小肠细胞的腺苷酸环化酶。由各种激素触发的复杂调节过程中涉及的分子步骤，仍有许多有待我们研究的。

(图 29-9)

胰岛素：合成、储存与分泌

关于胰岛素的生成、储存与释放的重要知识来自于 D. F. Steiner 和其同工作者的生物化学研究。他们的原定目标是想确定胰岛素的 A 链与 B 链如何合成，以及它们特殊的二硫交联键是如何构成的。他们以放射性亮氨酸或苯丙氨酸与大鼠胰脏或人类胰腺肿瘤的胰岛组织一同保温，这个类型的肿瘤能产生极大量的胰岛素。胰腺肿瘤产生出能与纯胰岛素专一抗体结合的两种具有放射性的蛋白质产物。已证明其中一种是胰岛素本身。然而，另一种由于它能和抗胰岛素抗体反应，虽然与胰岛素很相近似，但分子量比胰岛素

的大许多。用胰蛋白酶与羧肽酶处理这第二种产物，会引起许多肽键的断裂，生成一种化合物，并证明确实与天然胰岛素完全相同。

对胰脏生成类似胰岛素的大分子作进一步化学的和酶促的降解研究证明它具有图 29-10 所示的结构。现在称为胰岛素原的这个分子，由一个含有 81—86 个残基的单一多肽链所组成，残基数目随种属来源不同而有差别。它含有胰岛素的 A 链与 B 链；A 链构成胰岛素原的羧基末端，B 链则构成氨基末端。介于 A 与 B 链之间有一个连接性 C 链。A 链和 B 链都由两对碱性氨基酸与 C 链隔开。胰岛素原分子含有三个二硫交联键，分布在与天然胰岛素 A 与 B 肽段的相同位置上。不同种属的胰岛素原的 C 链的氨基酸顺序表现出许多置换；其突变率比 A 与 B 链的突变率大许多倍。

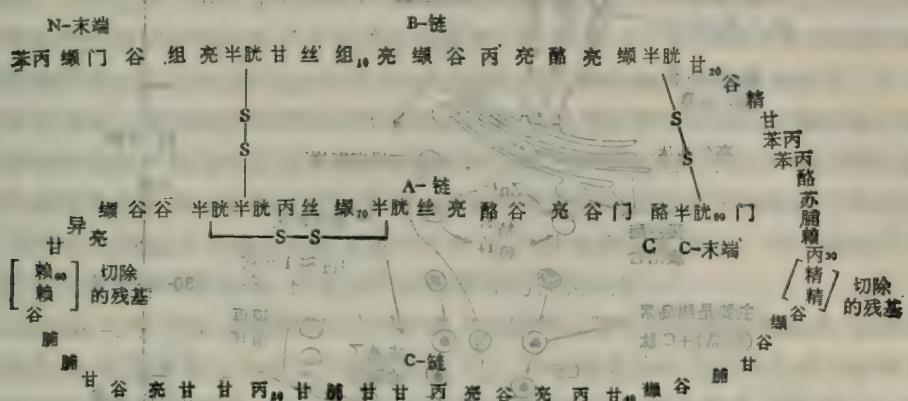


图 29-10 牛胰岛素原与胰岛素的结构，切除标明的氨基酸就获得游离胰岛素(大号字)与 C-链(小号字)。

胰岛素原本身只稍为有类似胰岛素的活性，是胰岛素的生物合成前物质。它转变成胰岛素(图 29-10)显然是由胰岛组织中肽酶的作用完成的。这种转变胰岛素原为胰岛素的作用是多种主要在细胞外有生物功能的蛋白质的合成和激活方式的又一例子。这类蛋白质包括胰蛋白酶和糜蛋白酶在内，它们是以无活性单条肽链的形式合成的，通过蛋白酶的作用转变成具有两条或两条以上多肽链并由二硫交联键连在一起的活性形式。

图 29-11 概括出胰岛组织 β -细胞内胰岛素的生物合成、分泌和释放各个阶段与时间的关系。首先在核糖体上以胰岛素原的形式合成胰岛素，然后通过内质网的囊泡转移至高尔基体。胰岛素原经裂解成胰岛素与 C-肽，在高尔基泡囊内胰岛素和 C-肽与 Zn^{2+} 形成晶体，整齐地排列并包装在泡囊里。最后在收到血糖水平升高所触发的一定信号时，以胞吐作用方式通过原生质膜将泡囊内容物释放到血液中。在胰岛素释放中 Ca^{2+} 起重要作用。

胰岛素在人的血液和组织中的浓度太低，以至于用标准的化学方法或生物检定法都不足以作出其分泌和利用的研究。然而，用极灵敏的放射免疫检定法已经能测出每毫升空腹血中约含有 0.4 毫微克或相当于 1 nM 的胰岛素。用过高糖的饮食后，其含量可升高到 3 或 4 倍于此水平。正常人类胰腺含有的胰岛素约 10 毫克，但每天分泌入血中的数量只有 1—2 毫克左右。在循环血液中也有游离的 C-肽和少量胰岛素原的存在，它们显然是与胰岛素一起释放到血中的。

从胰脏释放出胰岛素有赖于血糖浓度和某些其它因素。当进膳后，血糖浓度明显

地升高超出每 100 毫升约 80—90 毫克这一正常值时，最靠近 β -细胞的原生质膜的分泌泡囊内容物即吐入血中。胰岛素的浓度在吃饭后一或二小时就降低到正常的水平。血中胰岛素分子的半衰期只有约 3—4 分钟；因此，从胰腺释放胰岛素对血糖浓度的波动是很敏感的。某些氨基酸浓度的增加和胃与肠分泌的特殊因子也能激发胰岛素的释放。

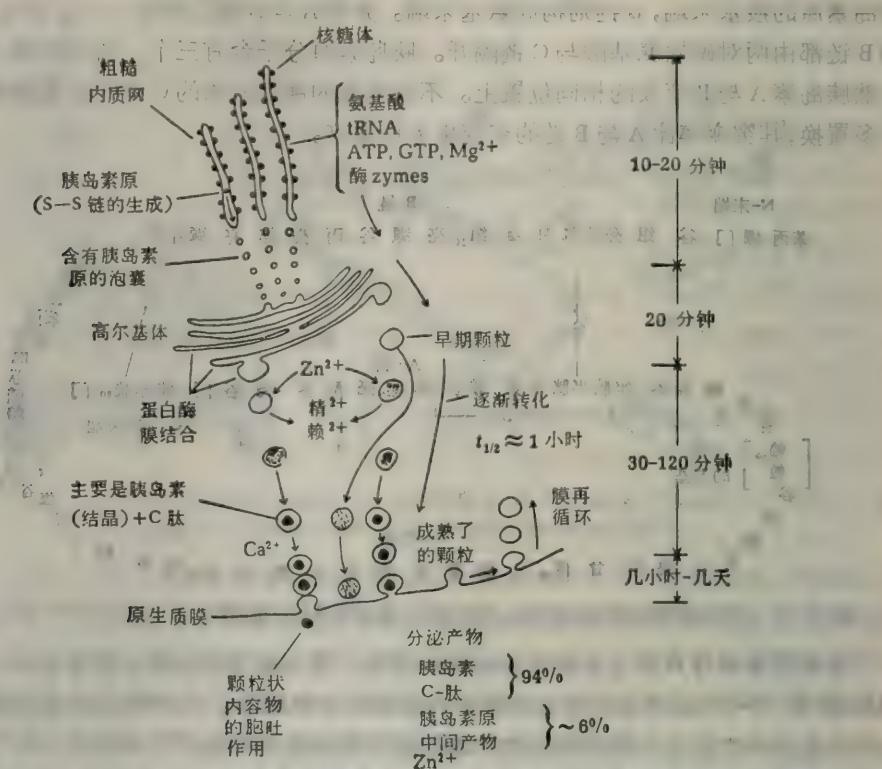


图 29-11 胰岛素生物合成及其从胰岛 β -细胞释放的图解，标明了时间关系。成熟了的颗粒不到血糖水平明显地增高时并不释放。〔引自 D. F. Steiner and colleagues, Fed. Proc., 33:2107 (1974)〕

胰岛素对靶组织的作用

对哺乳动物施用胰岛素最明显的效应是引起血糖水平的急剧下降，有人认为这是由于提高了葡萄糖从血液穿过肌肉和脂肪细胞的原生质膜进入细胞内空隙的运输的缘故。胰岛素也具有促进糖原合成酶由无活性变为有活性的直接效应。此外，胰岛素抑制脂肪水解作用。其后果：在外周组织中提高了血糖转化成糖原和脂类的作用，增加了葡萄糖氧化成二氧化碳的作用。

胰岛素也能促进从氨基酸合成蛋白质的作用，加强葡萄糖激酶和磷酸果糖激酶的诱导生成，且能抑制糖原异生作用中某些酶，如丙酮酸羧化酶与果糖二磷酸酶的形成。胰岛素似乎对其靶细胞的原生质膜具有广泛的作用，引起它发生不仅使葡萄糖，而且也使氨基酸、脂类和 K^+ 的进入加强的变化。随即就发生原生质和储存产物生物合成的增加。

胰岛素受体

许多年以前，人们已首先提出胰岛素可能在靶细胞内或在靶细胞上与专一受体结合的观点，然而，无法证明。直到本世纪 60 年代末期，人们才能用实验证明确有这些受体存在。用有放射性的胰岛素发现它与肌肉和脂肪细胞的专一受体以一种与时间和温度有依附关系的极高的亲和力相结合。胰岛素的结合在脂肪细胞上带来有特征性的代谢影响，特别是从葡萄糖合成三酰基甘油的增多以及脂类酶促水解的减少。

P. Cuatrecasas 的新颖实验为证明标记的胰岛素在细胞的外表面结合这个结论提供了一个途径。首先让胰岛素与亲和层析中常用的一种惰性多糖琼脂糖大珠粒以共价键相连接。这种珠粒比脂肪细胞大很多不能透过细胞膜（图 19-12）。如将胰岛素-琼脂珠粒与脂肪细胞悬浮物混合起来，即引起细胞与珠粒结合，很可能结合在胰岛素侧链上；与此同时脂肪细胞表现出激素的某些特征性代谢效应。虽然很难证明脂肪细胞的激发是由细胞与衍生珠粒结合而不是由于某些游离胰岛素粘附在珠上所引起的，但这个和其它的探讨强烈地表明胰岛素结合位点是在细胞表面上。破坏细胞膜以后就再无胰岛素结合位点显现。正常脂肪细胞每平方微米细胞表面约只含 10 个胰岛素受体位点。每个细胞只要有 100 个受体位点与胰岛素结合，即足以产生能测知的代谢效应。

Cuatrecasas 与他的同工作者成功地用非离子去垢剂从脂肪细胞提取胰岛素-受体蛋白并在胰岛素-琼脂糖珠上用亲和层析法提纯了它。在这种方法中利用胰岛素与胰岛素受体之间的相互作用的高度专一性，仅只保留住溶化了的胰岛素受体分子，因而可以从细胞提取物大多数其它蛋白质中分离出它们。已经达到 250,000 倍以上的纯化作用。胰岛素

受体蛋白的分子量约为 300,000。它与胰岛素的亲和力很大；胰岛素-受体复合物的解离常数约为 $10^{-10} M$ 。

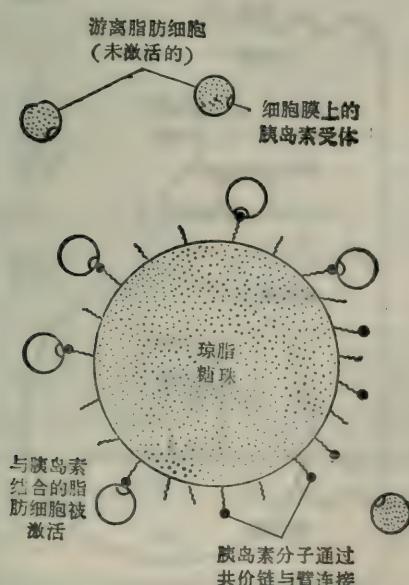


图 29-12 脂肪细胞与通过共价和大琼脂糖珠连接的胰岛素分子相结合。由于细胞的结合对胰岛素有专一性，又由于结合了的细胞被胰岛素所激活，因而作出结论认为胰岛素受体在细胞表面。

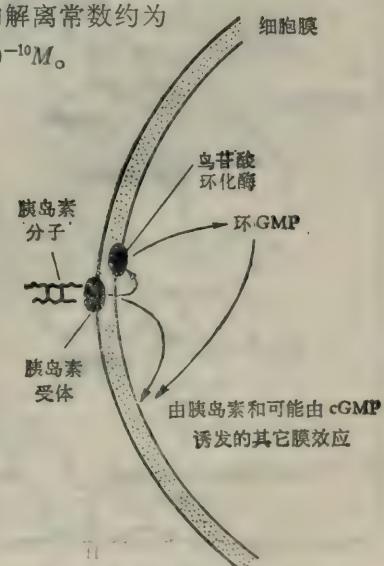


图 29-13 胰岛素在脂肪细胞上与胰岛素受体结合时诱发 cGMP 的生成与专一的膜变化

胰岛素结合对环核苷磷酸的影响

胰岛素与肾上腺素和胰高血糖素截然不同，它与靶细胞膜结合时并不引起 cAMP 的增加；实际上，胰岛素常引起 cAMP 的减少，由于它对血糖的作用与胰高血糖素的相反，这也就正如意料的一样，然而 Cuatrecasas 与别人都发现当胰岛素在脂肪细胞膜上与它的受体结合时，cGMP 的浓度增加，与此同时 cAMP 却减少。cAMP 和 cGMP 这两个调节核苷酸（图 29-4）在细胞内发生有相反的或两向的过程的调节作用中，它们的浓度常出现相反的变化。这些发现提示 cAMP 与 cGMP 以相反的关系而起作用，曾称为阴阳学说。但是这种关系还需要大量研究工作才能确定。图 29-13 总结出靶细胞内胰岛素与其受体位点结合时可能产生的效应。

胰岛素的作用被四种其它激素从这个或那个方面与之抗衡，即：(1)胰高血糖素；(2)垂体生长激素；(3)糖皮质激素，与(4)肾上腺素。生长激素通过依赖于 Ca^{2+} 而使 cAMP 增加的作用，对多种组织引起复杂而又广泛的效应。它也有特征性地刺激 α -细胞分泌胰高血糖素，使血糖升高。皮质醇（图 29-14）是肾上腺糖皮质激素之一，它既引起葡萄糖从

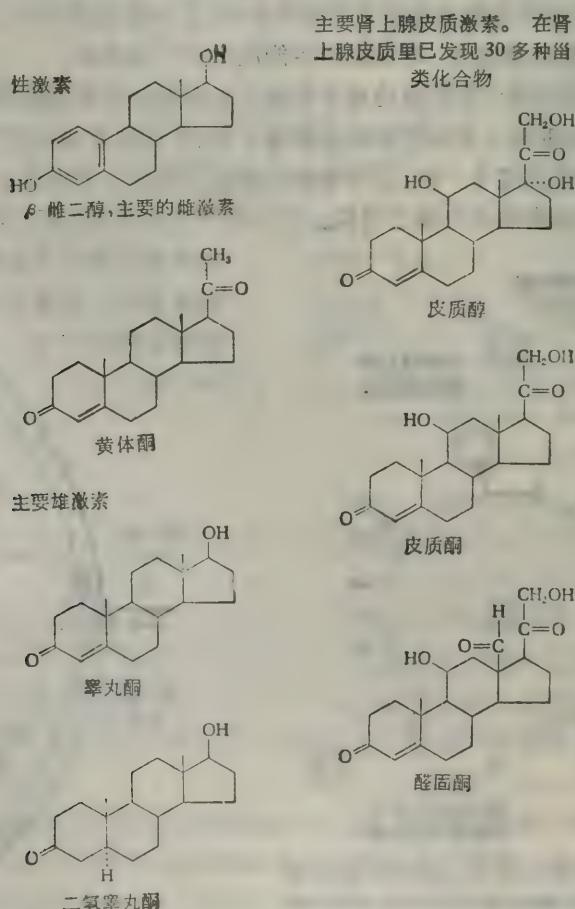


图 29-14 主要甾类激素

肝中释出，又引起机制不明的糖原沉积的增加。胰岛素，垂体前叶与肾上腺皮质之间在葡萄糖代谢方面的交互作用是非常复杂的，它们的生化基础至今尚不明了。

甾类激素

大多数甾类激素的功能虽是高度特殊化的，对代谢不产生全身性或系统性影响，但近年的研究工作已为甾类激素或许还有其它脂溶性激素的生化基础提供了深刻的认识。甾类激素包括：雌激素类或称雌性激素，其中以 $17(\beta)$ -雌二醇与雌酮为最重要；雄激素类或雄性激素（睾丸酮，二氢睾丸酮）；妊娠激素称黄体酮；以及肾上腺皮质的甾类激素（主要的有：皮质醇，醛固酮与皮质酮）等。图29-14列出这些激素的结构。性激素虽主要作用于性附属器官，但肾上腺皮质分泌的某些甾类激素在许多组织中对糖和蛋白质代谢有着巨大的影响。

从E. V. Jensen与他的共同工作者对雌激素作用的早期研究中首先发现了这些甾类激素与专一受体相结合。他们研究了注入未成熟的雌性动物体内极少量的放射活性很高的雌二醇的去向。这些标记了的雌激素集中于其所作用的靶器官如子宫、阴道等处，但并不经历化学变化。标记雌激素的摄取与在这些靶器官上最初出现可测知的激素效应，在时间上有密切的平行关系。用完整子宫组织或子宫匀浆与微量的标记的雌二醇进行保温，发现激素在细胞溶质和核这两种细胞组分中变成结合的了。可溶性细胞溶质组分中雌二

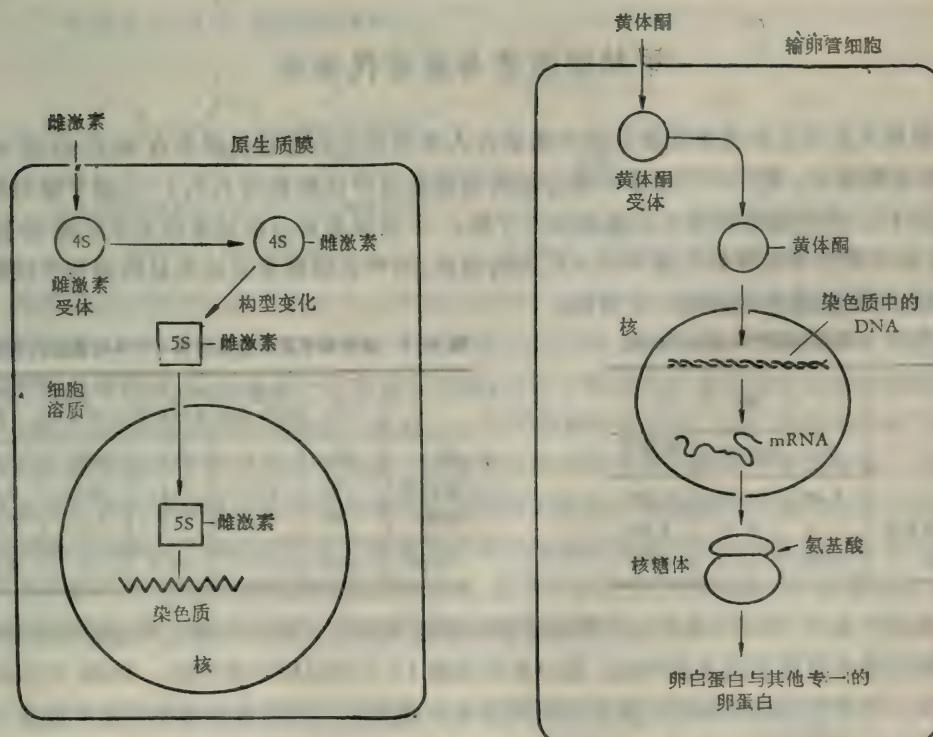


图29-15 子宫细胞中雌激素与雌激素受体相互作用的图解。[引自 E. V. Jensen and E. R. DeSombre, *Science*, 182: 128(1973)]

图29-16 黄体酮作用于一个输卵管细胞的图解

醇与一种沉降系数为 4S 的专一能和雌激素结合的蛋白质结合。在细胞核部分找到的标记雌激素都集中于染色质内。对雌激素无反应的组织内找不到雌激素的受体。

细胞溶质中的雌激素受体蛋白质仅微量存在于靶细胞中。此种受体已用亲和层析法高度纯化(但仅有微克数量)。它的分子量约为 200,000。纯化了的受体对雌激素具有异乎寻常高的亲和力, 它与激素成非共价结合, 雌激素-受体复合物的解离常数在 10^{-9} 与 $10^{-2} M$ 之间。

Jensen 与 J. Gorski 实验室的研究证明正常时细胞溶质内游离的雌激素-受体蛋白质以一种在 4 S 时沉降的形式存在, 但分离后易形成二聚体分子。当与雌激素结合时, 4 S 受体经历变化生成 5 S 沉降的形式。然后, 5 S 雌激素-受体复合物进入细胞核内与染色质结合(图 29-15)。

运用类似的方法, 也发现其它甾类激素的受体蛋白质, 包括前列腺组织中的雄激素受体及几种肾上腺皮质激素的受体。B. W. O'Malley 与他的共同工作者在鸡输卵管组织中发现有黄体酮的专一受体, 并对它的作用进行了开拓性的研究。继黄体酮与受体结合之后, 黄体酮-受体复合物随即由细胞溶质易位到细胞核内。黄体酮-受体复合物与染色质结合, 引起以 DNA 为指导的 RNA 聚合酶活性的增加, 因而增加了好几种为由输卵管大量生产的蛋白质(如卵白蛋白和抗生素蛋白质等)编码的 mRNA 的生成。从这类深入的实验中推测孕酮, 可能还有其它甾类激素可能通过调节其靶细胞的细胞核内某些专一性基因的转录速度而起作用。

甲状腺激素与基础代谢率

虽然人们久已熟悉甲状腺分泌的激素对人类与动物的基础代谢率有强烈的生理效应, 但直到现在, 我们对于由甲状腺分泌的典型激素甲状腺素与 3,5,3'-三碘甲腺原氨酸(图 29-17)的功能的精确生化基础尚不了解。甲状腺激素分泌过多称为甲状腺功能亢进, 这是突眼性甲状腺肿大或 Graves 氏病的根源。而甲状腺激素分泌不足则称为甲状腺功能过低, 它是粘液性水肿的一个特征。

表 29-2 主要燃料的呼吸商和供能数

	产能 千卡		
	RQ	每克燃料	每升 O_2
糖	1.00	4.18	5.05
三酰基甘油	0.71	9.46	4.69
蛋白质	0.80	4.32	4.46

表 29-3 成年男子正常燃料利用(24 小时基础代谢情况)

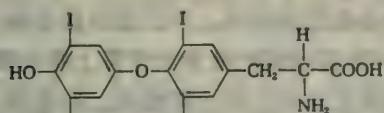
	克	消耗 O_2 克分子数	产生 CO_2 克分子数	产生的千卡	平均 RQ
糖	200	7.5	7.5	836	1.00
蛋白质	70	3.0	2.4	306	0.80
脂肪	60	5.25	3.8	578	0.72
总数	330	15.75	13.7	1,720	0.82

基础代谢率(BMR)是在一个完全安静躺着但又没有入睡的人身上测出的氧消耗率, 这种测定是在空腹状态下进行的, 至少是在进膳 12 小时以后才测定的。BMR 可以每平方米每小时所产生热能的千卡数或以耗氧的体积来表示。因为食物燃烧放出的能量与所耗氧之间有直接关系。表 29-2 列出糖、脂肪、蛋白质等每克营养素产生的能量和每消耗一升氧用于这些物质所产生的能量。表内也列出每种物质所产生 CO_2 与消耗 O_2 的克分子比值, 亦即呼吸商(RQ)。在临床应用上, 假定正常混合食物燃烧时的呼吸商为 0.82(表

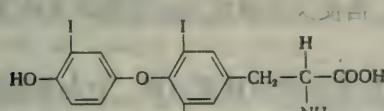
29-3)。氧的消耗率是体表面积的函数,而不是体重的函数。

甲状腺功能亢进病人的BMR比正常水平高出20至80%,摘除此病患者部分甲状腺以减少甲状腺的分泌总量,可使其BMR下降至正常水平。相反,给予甲状腺功能过低的病人以甲状腺激素可使其基础代谢率增加。几乎所有器官的耗氧量都受甲状腺激素的影响。主要的例外是大脑组织,它的耗氧量不受甲状腺机能状态影响。

甲状腺素与3,5,3'-三碘甲腺原氨酸(图29-17)都是酪氨酸的含碘衍生物。虽然甲状腺素的产生量要比三碘甲腺原氨酸的大得多,但是后者的活性却大5至10倍。正常血液中碘离子的浓度很低,甲状腺从血中抽出碘离子并积累起来。通过过氧化物酶的作用利用碘化物使酪氨酸碘化,即生成3,5-二碘酪氨酸,后者再进一步转变成甲状腺素与3,5,3'-三碘甲腺原氨酸。这些激素都是从甲状腺球蛋白分子上的酪氨酸残基合成的,此种蛋白质存在于甲状腺腺泡内,是一种大分子量的糖蛋白。甲状腺球蛋白本身没有生物活性,但在蛋白水解作用中可向血中放出激素。且激素在血中与一种称为甲状腺素结合球蛋白(分子量55,000)的专一载体糖蛋白相结合。甲状腺激素的生物合成可被硫脲与硫尿嘧啶(图29-18)等药物所抑制。



甲状腺素(L-3,5,3',5'-四碘甲腺原氨酸)



三碘甲腺原氨酸(L-3,5,3'-三碘甲腺原氨酸)

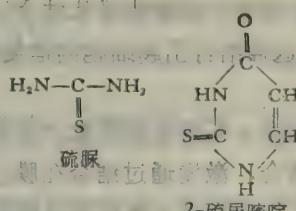


图29-18 甲状腺素生物合成的抑制剂

图29-17 甲状腺激素

虽然经历了两代人在生物化学上的深入研究,但仍不知道甲状腺素刺激组织耗氧的确切机制。甲状腺素促进与呼吸作用有关的几种酶浓度的增加,尤其是线粒体的甘油3-磷酸脱氢酶的浓度,此酶是一种黄素脱氢酶,它在甘油磷酸穿梭系统中促使细胞溶质内NADH的还原当量进入线粒体的呼吸链中。甲状腺素也在没有ADP存在的情况下增加肝线粒体的呼吸率并使得线粒体膨胀。微量甲状腺素可诱导蝌蚪出现变态现象,并伴随着氨基氮的排出从排氨型排泄转向排尿素型排泄的转换,这是通过大量增加形成尿素所必需的氨甲酰磷酸合酶与其它生成尿素所必需的酶类的浓度才有可能实现的。放射性甲状腺素与蝌蚪肝细胞染色质紧密结合的发现,为甲状腺素作用机制提供了重要线索,并提示甲状腺素是通过解除某些专一性基因的抑制而起作用的。

甲状腺激素、1,25-二羟胆钙化甾醇与降钙素

哺乳动物中有三种激素在钙和磷代谢的调节中起着主要的作用。虽然它们起作用的精确方式仍不太了解,但对它们活性的生化知识已获得很大进展。每当血Ca²⁺浓度下降

到正常水平以下时，甲状旁腺就向血液分泌甲状旁腺激素。此激素是一种具有 84 个氨基酸残基的多肽。它主要作用于肾脏，激发腺苷酸环化酶的活性。 $cAMP$ 的增多反映在尿中排出较多的磷酸盐，因而降低血中磷酸根的浓度。甲状旁腺激素也起着促激素的作用，在肾脏中它促进 1, 25-二羟胆钙化甾醇从其前身物 25-羟胆钙化甾醇的形成。目前已把 1, 25-二羟胆钙化甾醇看作是由肾脏分泌并作用于小肠和骨骼的一种激素。它促进肠吸收 Ca^{2+} 的作用是由于它能激发肠上皮细胞内的能和 Ca^{2+} 结合的蛋白质的生物合成。这可能是通过解除专一结构基因的抑制而达成的。甲状旁腺激素也促进 Ca^{2+} 从骨骼中释放。

降钙素是甲状旁腺分泌的(也由甲状腺分泌)另一种多肽激素，其分子量约为 4,500，它含有 32 个氨基酸残基。它作用的主要部位是在骨骼，对肾也有次级效应。当血中 Ca^{2+} 的水平增加时，降钙素的分泌也增加。降钙素抑制 Ca^{2+} 从骨骼中进入血液，并与甲状旁腺激素的作用对抗。

摘要

在哺乳动物内分泌系统的机构中存在着一个分级管制体系。下丘脑分泌出称为释放因子和抑制因子的肽类，每种肽又刺激(或抑制)一种垂体前叶激素如促肾上腺皮质激素，促甲状腺激素与促性腺激素等的释放。这些促激素又作用于专一靶组织。有些激素(可能所有的激素)与专一的激素受体结合。受体是分布在细胞表面或在细胞溶质中的一些蛋白质。这种结合引起细胞内信使的生成，信使又刺激或抑制细胞的某些基本活动。

肾上腺素引发一系列级联的放大作用，促使肝和肌肉中糖原分解。它与细胞膜上专一受体的位点结合，激发通过结合在膜上的腺苷酸环化酶而促使细胞内的 ATP 转变成 3',5'-环腺苷酸。 $cAMP$ 依次激活蛋白激酶；此处消耗了 ATP 以使磷酸化酶激酶磷酸化而变成有活性的形式，然后再去激活糖原磷酸化酶。这一串的事态就这样激发了肝中的糖原分解变成血糖。肾上腺素也通过 $cAMP$ 的生成以抑制肝中葡萄糖生物合成糖原，并促进脂肪组织中游离脂肪酸的生成。胰高血糖素是胰岛组织 α -细胞分泌的一种多肽激素。它对肝脏中糖原分解作用有和肾上腺素完全相同的作用，但对肌肉无作用。胰高血糖素的释放是由低血糖和生长激素的刺激所引起的。

其它多种激素包括 ACTH、促性腺激素、甲状旁腺激素、降钙素和加压素等都是通过在专一的靶组织中促进 $cAMP$ 生成而起作用的。但在这些情况下 $cAMP$ 作用以后的步骤还不知道。胰岛素是在胰脏 β -细胞内以胰岛素原的形式制成，它是一条具有 81—86 个氨基酸残基的单链多肽，经裂解后成胰岛素。当血糖升高超过正常水平时，胰岛素便释放入血中。胰岛素能促使葡萄糖与其它燃料运输到肌肉与脂肪细胞内。胰岛素与脂肪细胞膜上的专一受体结合引起 $cAMP$ 的水平下降而 $cGMP$ 水平则上升。

甾类激素，特别是雌激素与黄体酮，与细胞内受体蛋白结合形成激素-受体复合物，此复合物进入细胞核与染色质结合。在鸡输卵管内黄体酮-受体复合物促进为几种典型卵蛋白如卵清蛋白等生物合成编码的信使 RNA 的形成。甲状腺激素能促进基础状态的耗氧量与热产量，但对其专一的生化作用所知甚少。

参 考 文 献

书藉

Lefebvre, P. J., and R. H. Vager: *Glucagon: Molecular Physiology, Clinical and Therapeutic Implications*, Pergamon, New York, 1972. A collection of 22 review articles covering all aspects of glucagon chemistry and function.

Newsholme, E. A., and C. Start: *Regulation in Metabolism*, Wiley, New York, 1973. An extremely valuable book outlining the biochemistry and theory of metabolic regulation.

Robison, G. A., R. W. Butcher, and E. W. Sutherland: *Cyclic AMP*, Academic, New York, 1971. A comprehensive review written by members of the laboratory in which cyclic AMP was discovered.

White, A. P. Handler, and E. L. Smith: *Principles of Biochemistry*, McGraw-Hill, New York, 5th ed., 1973. Includes a comprehensive treatment of biochemical endocrinology and the more physiological aspects of metabolism.

论文

- Brostrom, C. O., J. D. Corbin, C. A. King, and E. G. Krebs: "Interaction of the Subunits of Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase of Muscle," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 68: 2444—2447 (1971).
- Cuatrecasas, P.: "Interaction of Insulin with the Cell Membrane: The Primary Action of Insulin," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 63: 450—457 (1969).
- Cuatrecasas, P.: "Insulin Receptor of Liver and Fat Cell Membranes," *Fed. Proc.*, 32: 1838—1846 (1973). A very readable review of the identification and isolation of insulin receptor.
- Cuatrecasas, P.: "Membrane Receptors," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 169—214 (1974).
- Ehrlichman, J. C. S. Rubin, and O. M. Reson: "Physical Properties of a Purified Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase from Bovine Heart Muscle," *J. Biol. Chem.*, 248: 7607—7609 (1973).
- Greengard, P. and J. W. Kebabian: "Role of Cyclic AMP in Synaptic Transmission in the Peripheral Nervous System," *Fed. Proc.*, 33: 1054—1067 (1974).
- Guillemin, R.: "Hypothalamic Hormones: Releasing and Inhibiting Factors," *Hosp. Pract.*, November 1973. An excellent short review.
- Illiano, G., G. P. E. Tell, M. I. Siegel, and P. Cuatrecasas: "Guanosine 3':5'-Cyclic Monophosphate and the Action of Insulin and Acetylcholine," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 70: 2443—2447 (1973).
- Jensen, E. V., and E. R. Desombre: "Estrogen-Receptor Interactions," *Science*, 182: 126—134 (1973).
- Levine, R.: "The Action of Insulin at the Cell Membrane," *Am. J. Med.*, 40: 691—694 (1966). An important early discussion of the cell membrane as the site of insulin action.
- O'Malley, B. W., and A. R. Means: "Female Steroid Hormones and Target Cell Nuclei," *Science*, 183: 610—620 (1974). An important review of the interaction of steroid-receptor complexes with nuclear DNA and the regulation of transcription into mRNA.
- Pastan, I.: "Cyclic AMP," *Sci. Am.*, 227: 97—105 (1972).
- Ryan, J., and D. R. Storm: "Solubilization of Glucagon and Epinephrine-Sensitive Adenylate Cyclase from Rat Liver Plasma Membranes," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60: 304—311 (1974).
- Schally, A. V., A. Arimura, and A. J. Kastin: "Hypothalamic Regulatory Hormones," *Science*, 179: 341—350 (1973). A useful and comprehensive review.
- Sica, V., I. Parikh, E. Nola, G. A. Puca, and P. Cuatrecasas: "Affinity Chromatography and the Purification of Estrogen Receptors," *J. Biol. Chem.*, 248: 6543—6558 (1973).
- Steiner, D. F., W. Kemmler, H. S. Tager, and J. D. Peterson: "Proteolytic Processing in the Biosynthesis of Insulin and Other Proteins," *Fed. Proc.*, 33: 2105—2115 (1974).
- Tager, H. S., and D. F. Steiner: "Isolation of a Glucagon-Containing Peptide: Primary Structure of a Possible Fragment of Proglucagon," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 70: 2321—2325 (1973).
- Tanner, J. M.: "Human Growth Hormone," *Nature*, 237: 433—439 (1972).
- Zahlten, R. N., A. A. Hochberg, F. W. Stratman, and H. A. Lardy: "Glucagon-Stimulated Phosphorylation of Mitochondrial and Lysosomal Membranes of Rat Liver *In Vivo*," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 69: 800—804 (1972).

[任邦哲译 简士廉校]

第三十章 哺乳类代谢中各器官之间的相互关系

前面第二、三篇各章主要以细胞作为代谢单位讨论过代谢中心途径的各种化学通路，酶促催化反应以及调节作用等。现拟综合并总结脊椎动物的，特别是人类的，代谢过程中各器官之间的相互关系。

首先我们要知道营养料通过血液是如何运送到各个器官去的，以及不同的代谢活动如何委托给各种组织与器官。然后我们将特别详细地考察哺乳动物机体对饥饿和糖尿病这两种危急情况下所作的代谢性应答。也将提及癌细胞的某些代谢失常。

虽然生物化学的原理已经运用于医学的理论和实践许多年了，但我们对人类生化的知识仍然是十分零碎的。人类疾病的分子基础是当前生物化学的特大难题，也正是生化最重要研究领域之一。

器官之间的运输：血液

血液是液体运载工具，大部分有机营养料经肠道吸收由血液输送到肝脏加工，然后再输送到其它器官；同时血液也将有机废料与过剩的无机离子运往肾脏便于排泄。血液也是从肺运氧到各组织并将呼吸代谢产生的 CO_2 运走的运载工具。此外血液还从各种内分泌腺运走激素和其它化学信使到它们各自专一的靶器官中去。

表 30-1 人血浆主要蛋白质成分
血浆内还有次要蛋白质组分 50 种左右，其中包括有许多种酶

	浓度毫克/100毫升	分子量近似值	其它组分	功能
血清白蛋白	3,000—4,500	68,000		调节渗透压 运输脂肪酸，胆红素等
α_1 -球蛋白	100	40,000—55,000	糖	不知道
α_1 -脂蛋白+	350—450	200,000—400,000	40—70%脂类	运输脂类
α_2 -球蛋白	400—900	60,000—100,000	可到 800,000	未知
α_2 -糖蛋白			糖	未知
血浆铜蓝蛋白	30	150,000	糖	运输铜
凝血酶原		63,000	糖	凝血
β -球蛋白	600—1,200	60,000—100,000		
β_1 -脂蛋白	350—450	3—20 百万	80—90%脂类	运输脂类
铁传递蛋白	40	85,000	糖	运输铁
血纤维蛋白溶酶原		90,000		血纤维蛋白溶酶前身物
γ -球蛋白†	700—1,500	150,000	糖	抗体
纤维蛋白原	300	340,000	糖	凝血

+ 第 302 页载有血浆脂蛋白的分布。

† γ -球蛋白存在很多种不同类型。

人类血管系统大致含有血液约 5—6 升。几乎它的体积的一半由细胞所组成；转运氧和一些二氧化碳的红细胞（红血球），比红细胞少得多的白细胞（白血球）和血小板。非

细胞部分为血浆，其中约 10% 由各种有机的与无机的溶质所组成。血浆蛋白占了溶质的四分之三。各种类型的血浆蛋白质具有多种重要功用（表 30-1）。其中有些有转输重要营养料的能力，如转运脂类和脂肪酸，以及转运某些微量金属、维生素和激素。其余溶解在血中的溶质包括有机营养料与代谢产物，废料，和无机盐类。表 30-2 所列为正常人血浆的主要成分及其一般功能。

表 30-2 正常人血浆的主要成分

	浓度的近似值 mg%	功 能
蛋白质(总)	5,800—8,600	见表 30-1
血清白蛋白	3,000—4,500	
α , β , 与 γ -球蛋白	2,800—3,800	
脂类(总)	400—700	
三酰基甘油	100—250	在运向储存或氧化位点途中的燃料
磷脂	150—250	
胆固醇及其酯类	150—250	
游离脂肪酸	8—20	
葡萄糖	70—90	肌肉, 心脏燃料的直接来源
氨基酸	35—55	糖的运输形式
尿素	20—30	蛋白质合成的前身物
尿酸	2—6	氨基酸氮的排泄产物
肌酸酐	1—2	嘌呤分解代谢最终产物
乳酸	8—17	肌酸的排泄形式
丙酮酸	0.4—2.0	肌肉, 红细胞酵解产物
β -羟丁酸	3—6	肌肉, 红细胞酵解产物
乙酰乙酸	0.8—2.0	酮体, 乙酰基的运输形式
胆红素	0.2—1.4	原卟啉的降解产物
无机成分	毫克当量 l ⁻¹	
Na ⁺	140	
K ⁺	5	
Cl ⁻	100	
HCO ₃ ⁻	20	
磷酸盐	4	

通过各种调节机构使成分的波动平稳下来，并将血浆成分维持在有特征的稳定态，这是由于脊椎动物间歇性摄食周期的需要。我们将看到血中葡萄糖水平是由几种不同的控制机构严格地调节起来的。血液运载营养素通过各种器官的速率与它们的代谢率相比则是相当高的，因而血液单独一次“通过”大多数器官时被它们摄取的已知营养素的部分相对地说比较少。例如血液流经大脑时从中移去的葡萄糖少于进入的 5%。肝是例外，因为它能将从小肠来的食物中己糖的绝大部分提去。

在医学上，测定血浆与尿中特定成分的浓度是非常重要的，因为可以从中了解代谢障碍的性质以及治疗标准的效果。

哺乳动物中主要代谢活动的器官分布

脊椎动物所有主要器官尽管它们的高度专门化，仍能实现有如酵解、三羧酸循环与脂

类和蛋白质的生物合成等中心代谢途径的反应。然而每个器官对中心代谢途径的“协调”与分配的作用则又各不相同；每一器官都有其独特的燃料利用方式以及与它在机体内维持特殊功能的生物合成活动。

表 30-3 人体主要器官相对氧消耗量

	静息	轻工作	重工作
骨骼肌	0.30	2.05	6.95
腹部器官	0.25	0.24	0.24
心脏	0.11	0.23	0.40
肾脏	0.07	0.06	0.07
大脑	0.20	0.20	0.20
皮肤	0.02	0.06	0.08
其它	0.05	0.06	0.06
总数	1.00	2.90	8.00

现将哺乳类主要器官的特殊代谢活动与功能总括于后。为了辨明方向，表 30-3 列出人体不同器官在休息与有肌肉活动时的相对氧消耗量以及因此而产生的 ATP 能的相对数量。

肝及其在营养素分配中的作用

绝大部分从肠道吸收进入体内的营养素直接流到肝脏，它在哺乳动物的代谢中是营养素分配的主要中心。肝也许是任何器官中代谢伸缩性最大的一个，因为它最先“见”到从肠中进来的营养素，并因而必需按营养素混合物高度可变化的成分和不连续的或间歇的摄取营养素来调整它自己的代谢活动。肝脏对摄入的营养素行使加工和分配的职能，并维持循环血液中它们浓度的稳定性；肝还有分泌机能。

正常成年人肝重约 1.5 公斤，约相当于体重的 2—3%。肝的主要细胞是肝细胞，它是一种多功能的上皮细胞。根据营养情况肝脏迅速地改变它的大小和糖原与蛋白质的含量。当一个绝食的人在恢复饮食时，他的肝能在短时内增加重量，这不仅因为增加了蛋白质含量而且也因为糖原的极大增加。这可能达到肝脏湿重的 10%。此外当用外科手术摘除部分肝脏时，新的肝组织将会再生。

对于向它所接受的营养素混合物作出反应而诱导生成专一的酶类方面，肝是体内最具有机动性的器官。例如若以高蛋白食物给与一个哺乳动物，一两天后，肝内与氨基酸分解代谢以及与从氨基酸碳骨架来的糖原异生作用有关的某些酶类的含量将大大增加。若再把动物换上高糖膳食，则由以前氨基酸饲养所引发的氨基酸代谢酶类和糖原异生作用酶类都将几乎完全从肝中消失，某些酶只需数小时其它的在一两天内消失。因此肝有能力调节为处理专一性营养素所需酶类的生物合成编码的基因的表现。

肝接受来自小肠中低聚糖与多糖的消化所生成的游离单糖混合物。来到肝脏的游离葡萄糖中约有三分之二进入肝脏细胞并受到己糖激酶的作用磷酸化成为葡萄糖 6-磷酸；其余的游离葡萄糖就通过肝脏进入循环血液。葡萄糖以外的其它单糖如 D-果糖、D-半乳糖和 D-甘露糖等在肝中磷酸化后，再通过本书中描述的机制进一步转化成葡萄糖 6-磷酸。循环血液中除 D-葡萄糖和少量 D-果糖以外基本上不会有其它单糖。D-核糖经磷酸化后可用于生物合成核苷酸或通过磷酸葡萄糖通路的一部分反应转变成酵解序列中的

中间产物。

图 30-1 显示了葡萄糖 6-磷酸在肝脏中能够采取的主要代谢途径。用正常膳食时大多数葡萄糖 6-磷酸变成了糖原，脂肪酸，或血糖。由于肝脏所需 ATP 的大部分是由脂肪酸和氨基酸的氧化提供的，故只有较少量葡萄糖 6-磷酸完全氧化。约有半数葡萄糖在肝中进入磷酸葡萄糖通路进行降解，此通路负责产生作为脂肪酸的生物合成的还原剂所需要的 NADPH。

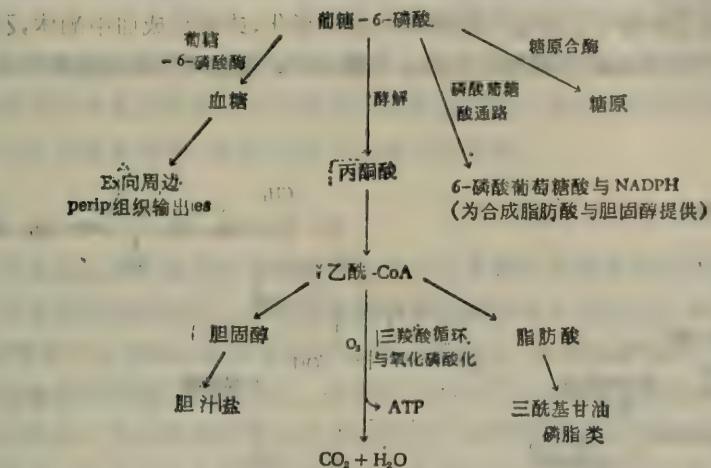


图 30-1 肝中葡萄糖 6-磷酸的代谢途径

从肠道吸收而进入肝的氨基酸也有几种可能的代谢途径(图30-2)。一部分直接进入循环血液运往周边组织，氨基酸将在此用于蛋白质的生物合成。有些流入的氨基酸由肝脏直接用来生物合成肝细胞本身固有的蛋白质，尤其是诱导酶类以及生物合成血浆蛋白。若有过多的氨基酸则它们将受到脱氨和降解成丙酮酸，草酰乙酸和三羧酸循环的中间产物。这些产物之中有些作为产生ATP能量而被完全氧化，而另一些则用作糖原异生作用的前身物。某些氨基酸可转化成各种特殊产物例如卟啉，多胺和嘌呤。氨基酸的氨基经过脲循环变成尿素；肝脏是哺乳类唯一能合成尿素的器官。人类的肝每天制造约20

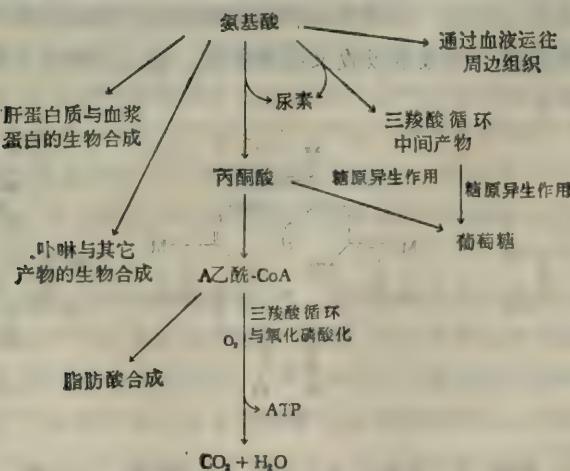


图 30-2 肝中氨基酸代谢

到30克尿素，这个过程需要放进颇多的ATP能量。当肝受伤时，生成了游离NH₄⁺离子而不是尿素。游离氨极端地有毒的，特别是对大脑。

从肠道吸收的某些脂类以磷脂形式通过门静脉直接进入肝脏；其余的主要三酰基甘油以乳糜微粒的形式通过排乾肠道的大淋巴管，即胸导管，而流入循环血液。正如图30-3所列出的那样进入肝的脂类也有多种代谢的选择。有些用于血浆脂蛋白的生物合成，磷脂类即以这种形式运送到周边组织。某些脂类水解后即被氧化成乙酰CoA。这一中心的中间产物为了供能可以通过三羧酸循环完全氧化，或转化成血中酮体，乙酰乙酸与D-β-羟丁酸，它们是周边组织利用的燃料。乙酰-CoA也可转变成胆固醇和其它甾类化合物。

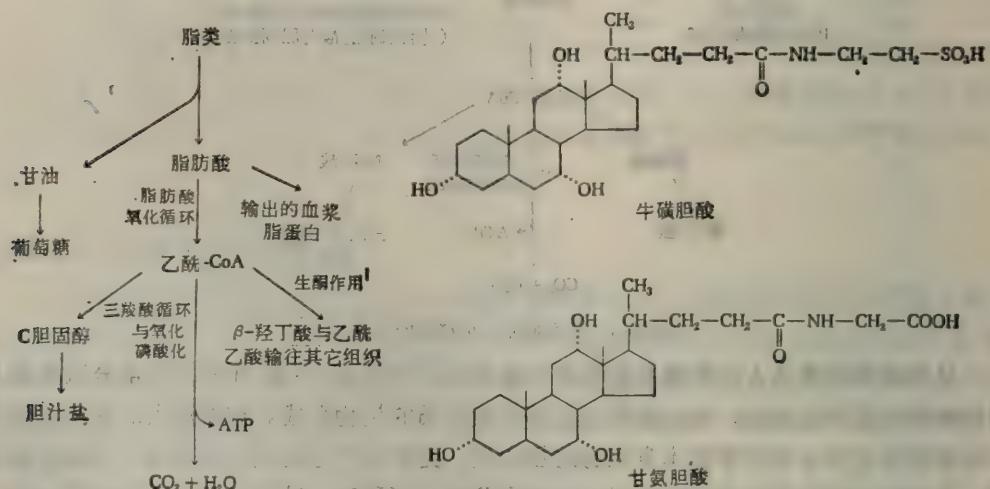
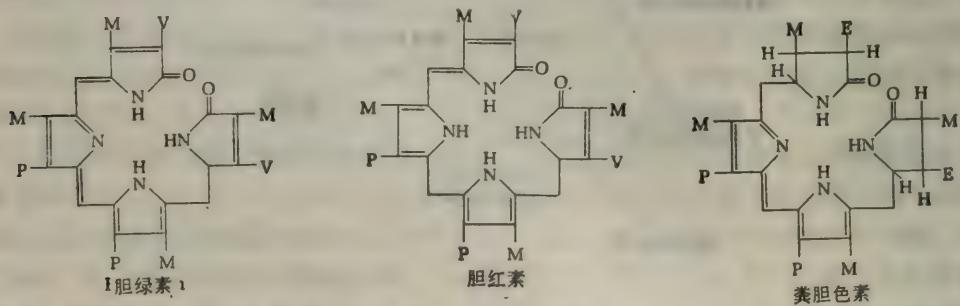


图 30-3 肝中脂类的结局

图 30-4 胆汁盐

肝脏还有排泄功能；是它生成了胆液，流入小肠。肝脏转化胆固醇为胆汁酸而且使它们与甘氨酸和牛磺酸一类含氮碱起作用产生相应的胆汁盐；例如牛磺胆酸和甘氨胆酸盐（图30-4）。胆汁盐流到小肠后，为准备脂肪酸和脂酰基甘油吸收而作为乳化剂。胆汁盐的大部分与脂类和脂肪酸一同被重吸收又回到肝脏。通过这种方式胆汁成分循环于肝和肠之间称为肠肝循环。



图例：M = 甲基 V = 乙烯基 P = 丙酰基 E = 乙基

图 30-5 胆色素

肝的另一排泄功能为降解原卟啉 IX 使成为不含金属的开链的四吡咯，即胆色素，原卟啉 IX 是由血红蛋白和其它亚铁原卟啉蛋白质衍生出来的。胆色素包括胆红素（红色）和胆绿素（绿色）（图 30-5），它们通过肠道微生物进一步降解产生棕色的粪胆色素，它是粪便的主要色素。另一重要成分是尿胆素原，它是胆红素的还原无色产物；尿胆素原和胆红素部分地被重吸收进入血流并回到肝脏。然而，如果肝脏遭到退化变性，若血红蛋白破坏过多，或者如果胆管被阻塞，则血中胆红素可能积聚到高水平而引起黄疸，病人皮肤沾染呈微黄色。

因此由肝产生的 ATP 能量用于糖原异生作用，糖原的合成，脂肪酸的生物合成以及从脂肪酸合成各种复杂脂类，肝中酶类及血浆蛋白的生物合成和尿素的生成以及其它小生物分子如非必需氨基酸、嘌呤、嘧啶和卟啉等的形成。

脂肪组织

在分配燃料以及在保持血中燃料水平方面其重要性仅次于肝脏的是脂肪组织。它是由特化了的脂肪细胞所组成，后者含有几乎是纯的没有水化形式的三酰基甘油的大微滴和球；这种微滴可构成脂肪细胞重量的 90%。皮肤下、深层血管周围、腹腔内、骨骼肌和乳腺内存在着脂肪细胞广泛的形成。脂肪组织决不只是一种惰性的储存库。它具有高代谢率并且对机体代谢的需要能作出迅速的反应。此外脂肪组织的总重量很大，构成体内一种主要组织。正常成年人的脂肪组织含有约 15 公斤三酰基甘油；而在肥胖者的体内三酰基甘油的储存量可数倍或很多倍于正常人。

脂肪细胞利用葡萄糖与脂肪酸作燃料以产生能量，而此能量又大部分用于生物合成三酰基甘油以供储存。葡萄糖是脂肪组织中合成三酰基甘油的两大前身物之一，它不仅为生物合成脂肪酸提供乙酰 CoA，也为三酰基甘油的甘油部分提供需要的前身物甘油 3-磷酸。以脂蛋白形式从血中到来的脂肪酸是脂肪组织中三酰基甘油的另一主要前身物。脂肪细胞在通过磷酸葡萄糖通路降解葡萄糖以产生脂肪酸生物合成和它的去饱和作用所必需的 NADPH 方面特别活跃。

脂肪组织最重要的功能是作为随时可以动员的三酰基甘油储存仓库。三酰基甘油在作为燃料库存形式和 ATP 的潜在来源方面有超过糖原的许多重大优点。按每克计算纯三酰基甘油完全氧化所产生的 ATP 分子数几乎是纯糖原的 2.5 倍。三酰基甘油含能量较多是由于它们的脂肪酸是还原程度较高的化合物因而每单位重量能放出的氢原子数量（电子当量）比糖原的多。此外，三酰基甘油可以几乎是以纯的形式储存于脂肪细胞中而糖原则是高度水化的物质，在积存时它与等重量的水相结合。曾有人估计，若正常成年男子体内 15 公斤三酰基甘油，用在燃烧时能产生相等数量 ATP 的糖原去代替，则此人的总体重将增加 60 公斤或 130 磅左右。

脂肪组织能迅速地从血中移除乳糜微粒。它们的三酰基甘油部分被脂肪细胞表面的脂蛋白脂肪酶所水解而产生游离的脂肪酸和甘油，后两者在脂肪细胞内再转化为三酰基甘油。乳糜微粒在血浆中的半衰期很短，大约 10 分钟，故摄取过多的三酰基甘油的储存发生很快。进食富于三酰基甘油的饮食后由于乳糜微粒和脂蛋白的浓度高而血浆呈混浊状。然而，两小时以内过多的三酰基甘油就沉积在脂肪细胞内而且血浆又转清彻。

储存的三酰基甘油从脂肪组织释放到血液中时又通过另一途径。三酰基甘油首先被

细胞内的脂肪酶水解，它们的活性是通过 cAMP，由各种激素包括肾上腺素、肾上腺皮质激素和胰岛素来控制的。这样释放出来的脂肪酸转移到血液中且与血清白蛋白以非酯化形式相结合，主要为了运往肌肉、心脏与肾脏。任何时候血液中都只有少量这种游离脂肪酸(FFA)，也称为未酯化的脂肪酸(UFA)。然而与血清白蛋白结合的脂肪酸的转换率非常高；它们的半衰期只有约 3 分钟。每天以这种高速度代谢方式运载的脂肪酸可达 300 克。

因此肝脏和脂肪组织构成产热燃料的储存、加工和分配的主要组织。在这两大组织之间存在着巨大的和动态的相互作用，这作用对许多因素特别是对某些激素有高度的反应性；这使得虽然进食周期是间歇的哺乳动物也能保持富于能量的燃料能经常流到各种组织中去。

骨骼肌

人类骨骼肌约用去静息期氧消耗量的 30% (表 30-3)；作重肌肉劳动的人们肌肉氧消耗量可增加许多倍而且此时几乎占有机体氧的总消耗量的 90%。肌肉的静息或基础氧需要量的绝大部分是为了血清白蛋白带来的脂肪酸的氧化。只有约 10—15% 的氧用于糖的氧化。然而，在像短跑时那种肌肉最大活动的过程里，骨骼肌的葡萄糖消耗大量增加。在这种情况下消耗的葡萄糖，绝大部分来自于肌糖原，后者通过酵解作用变成乳酸，造成氧债的形成。由于在这种情况下每个葡萄糖残基可产生两分子的 ATP，所以葡萄糖降解产生乳酸提供了 ATP 的补充来源。重肌肉活动过程中生成的血内乳酸的大部分被补救了并在肝中又转化成葡萄糖。这是一个每生成一分子葡萄糖需要投入六个高能磷酸基的过程。这是各器官之间代谢的相互作用的一个例子；在极端需要体力的时候肝脏间接地帮助了肌肉。心脏也消耗从骨骼肌来的乳酸。

肌肉约含有其湿重的 1% 的糖原，比肝脏的糖原含量少多了。然而，肌糖原由于缺少葡萄糖 6-磷酸酶而不能转变成血糖。

大脑

正常饱食的哺乳动物大脑的呼吸商是 1 (产生 CO₂ 与消耗氧的克分子比率)，表明它以葡萄糖作为它唯一的燃料。实际上大脑时刻都依靠葡萄糖的供应，因为它基本上既没有糖原也没有三酰基甘油作为燃料储存。此外，脑的代谢严峻地依赖于血糖的浓度。若血糖浓度从正常水平 80 毫克 % 下降到这个浓度的一半时就出现脑的机能障碍的症状。若像发生在胰岛素严重超剂量时那样，血糖水平下降到 20 毫克 % 或更低时就可发生昏迷。大脑利用葡萄糖完全通过酵解序列和三羧酸循环。

人类大脑利用成年人静息时氧消耗总量的 20% 或更多些 (表 30-3)，在重量基础上这个比例比大多数其它器官要大多了。这一大的能量需求的大部分，或许三分之二，用于维持穿过轴突膜的特征性跨膜电位，这是通过膜 Na⁺K⁺-ATP 酶活动维持的。这个结论是以 Na⁺K⁺-ATP-酶抑制剂 G 毒毛旋花苷对脑切片的呼吸有超过 50% 的抑制作用这一事实为根据的。虽然脑不能再生而且它的细胞也不更新，但却不断从氨基酸合成某些脑蛋白质，特别是微管和微丝的蛋白质亚基。两者构成发育中脑的可溶性蛋白质的半数以上且参与轴浆流动。乙酰胆碱和其它神经传导物质的合成也需要能量。脑以恒定的速率利

用能量；活跃的思维与高度的集中注意并不引起明显的氧消耗增加。

心脏

心肌的许多特点，特别是肌动蛋白与肌球蛋白纤维的分子设计和它们之间相互作用的性质等和骨骼肌的极相类似。然而，心肌尽管是周期性的却是不停地活动着，静息的或

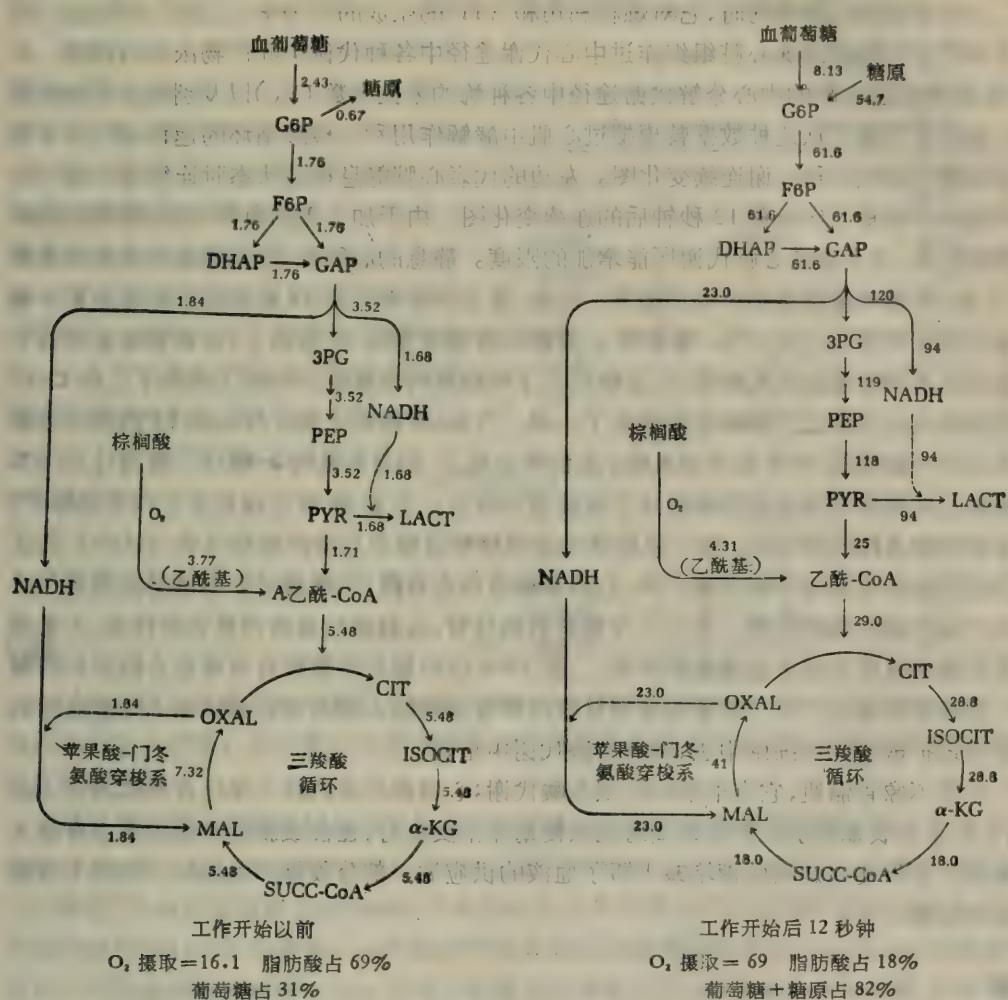


图 30-6 沉重工作负荷前后鼠心脏的代谢流量图。图内每一项反应速率都是以每克干重每分钟的微克分子表示。注意恒态时心脏从血取用的燃料主要是游离脂肪酸。但是负荷开始后，主要燃料是葡萄糖，大部分来源于糖原。葡萄糖残基大多数生成乳酸，其余经三羧酸循环氧化。虽然为了氧化从糖酵解序列来的细胞溶质 NADH，苹果酸-门冬氨酸穿梭系是被激活了，但是此穿梭系能再氧化 NADH 的量毕竟只占 NADH 总量的一小部分。总氧消耗速率增加约四倍。(此材料由 Garfinckel 提供)

图例：

G6P = 葡萄糖-6-磷酸	LACT = 乳酸
F6P = 果糖-6-磷酸	CIT = 柠檬酸
DHAP = 二羟丙酮磷酸	LSOCIT = 异柠檬酸
GAP = 甘油醛-3-磷酸	α-KG = α-酮戊二酸
3PG = 3-磷酸甘油酸	Succ-CoA = 琥珀酰-CoA
PEP = 磷酸烯醇丙酮酸	MAL = 苹果酸
PYR = 丙酮酸	OXAL = 草酰乙酸

适度活动的人们，心肌处于完全需氧代谢，仅在紧急情况下才用酵解作用作为额外的能源。心肌非常富于线粒体，可组成细胞质空间的 40% 或更多，而大多数骨骼肌则含线粒体较少。血清白蛋白从脂肪组织带来的游离脂肪酸是心脏的主要燃料。某些酮体，血糖，和乳酸等也能被利用。所有这些燃料都是通过三羧酸循环氧化的。心肌也含有少量糖原；它虽不够维持多长的时间，但我们将看到以它作为一种紧急时的燃料则是极为重要的。

心脏受强加工作负荷时，它对燃料利用和 ATP 的生成的动力学，已有人研究过。用直接分析法对快迅冰冻心脏组织作过中心代谢途径中各种代谢中间产物浓度的测定。此外，已经测定过心脏的中心分解代谢途径中各种酶的米氏常数 (K_M) 以及别构调节物的影响。用电子计算机从这种数据曾模拟过心肌中酵解作用和三羧酸循环的速率。图 30-6 中展示出灌注心肌两种代谢连续变化图。左边的代表心脏静息稳定状态时连续变化图；另一个代表开始重工作负荷 12 秒钟后的连续变化图。由于加上重的负荷，心的氧消耗速率约增加四倍，这大致是心脏代谢所能增加的限度。静息的心脏里，脂肪酸提供总燃料来源的 70%，而葡萄糖提供其余的那部分。然而，重工作负荷开始 12 秒钟以后从血中和从糖原提供的葡萄糖上升到 82%；葡萄糖 6-磷酸降解速率增加 30 倍以上。在静息稳定状态下心脏里从丙酮酸生成的乳酸很少；这种情况下丙酮酸的半数或半数以上变成了乙酰 CoA，后者的大部分又通过三羧酸循环氧化了。另一方面，突然加上重工作负荷 12 秒钟后从糖原生成的丙酮酸的 80% 还原成乳酸，在血中出现。相当大量的 α -酮戊二酸通过与门冬氨酸进行转氨作用变成谷氨酸而从三羧酸循环取出。谷氨酸离开线粒体变作苹果酸-门冬氨酸穿梭系统的参与者，这一系统是为着把酵解过程中生成的细胞溶质 NADH 的还原当量引进线粒体电子传递链中来，心脏里糖原供应有限，只够满足从静息转变到工作状态这个短过渡时期的需要。加上工作负荷后两分钟，心脏就已重新调整它的代谢，大量增加脂肪酸的氧化并减少葡萄糖利用率。图 30-6 中的模拟实验没有考虑被心脏利用的酮体。这些燃料是由于肾上腺素的作用从肝中释放出来的，因为它们能从血中比游离脂肪酸更快地扩散到肌肉细胞中去，故在心脏代谢中重要。

心肌不像骨骼肌，它有很活跃的氨基酸代谢；心肌蛋白质的转化率比骨骼肌的高。此外，心肌在对长期增加工作负荷或对冠状梗塞作出反应时，在合成新的收缩组织上有颇大的效能。冠状梗塞是因血管堵塞阻断了血液的供应后，部分收缩的组织的一部分不可逆的退化所致。

肾脏

肾脏有极高的呼吸代谢率但也表现出颇大的代谢机动性。肾脏能通过乙酰 CoA 和三羧酸循环最后降解血糖、游离脂肪酸、酮体和氨基酸，利用它们作燃料的来源。由肾脏产生的能量总和的三分之二到五分之四都用于分两阶段进行的尿的形成作用上。在第一阶段里血浆滤过肾脏皮质或外层中称为肾小球的显微结构。这些过滤器允许除蛋白质和脂蛋白以外的所有血浆的溶质进入肾小管。当小球滤液流经这些小管时， Na^+ , Cl^- , 葡萄糖，氨基酸和水都被重吸收进入那些流经环绕肾小管周围的小毛细血管的血液中。其结果是，当小球滤液向肾小管下端流动时它将变得更加浓缩以至每毫升终尿都是从大约 50 到 100 毫升小球滤液浓缩而成。

表 30-4 显示正常人尿的溶质成分。某些成分特别是葡萄糖在正常尿中的浓度比血

液中低多了。这样的溶质是逆浓度梯度而从小球滤液被重吸收进入血液中的。第二类溶质包括氨和 H^+ ，它们在尿中的浓度比血液中高；它们是从血液中主动分泌到肾小管去的。氨是由谷氨酰胺酶水解谷氨酰胺而产生的。第三类物质包括尿素和肌酸酐；后者是磷酸肌酸降解的终末产物，它们在小球滤液浓缩成尿时既不是吸收的，也不是逆梯度而分泌的。 Na^+ 是一种特殊情况；它是在肾小管的先头部分通过主动转运从小球滤液重吸收进入血浆中的，但到后来有一部分又通过与其它阳离子的次级交换仍回到尿中。

肾脏中 Na^+ 和 K^+ 的转运是特别重要的过程，它协助调节这些生命必需的阳离子在血中的浓度。G 毒毛旋花苷是一种专一的 Na^+K^+ -ATP 酶抑制剂，它对肾细胞悬浮液的氧消耗率的抑制作用高达 65—70%，表明肾脏中呼吸作用产生 ATP 能的绝大部分提供给了 Na^+K^+ -ATP 酶主动转运 Na^+ 和 K^+ 所需的能量。如此产生的向内的 Na^+ 梯度用于葡萄糖和氨基酸的主动转运，据认为它们是通过 Na^+ 的协同转运才能进入上皮细胞内的。

紧急状况下代谢的调整

饥饿

以前面关于哺乳动物不同器官之间的代谢关系为背景，现在我们就能考察饥饿和糖尿病这两种进行着引人注目的代谢调整的重要情况。

对志愿人员在医院监护条件下长时间的绝食已有过代谢的各种定量研究；特别重要的是由 G. F. Cahill, Jr., 和他的同工作者在波士顿所做的定量研究工作。表 30-5 展示了一个体重 70 公斤做坐着劳动活的正常成年人和一个体重 135 公斤肥胖者体内的各种潜在燃料量和它们的热当量值。这些数据首先表明体内葡萄糖和糖原总量是少的只能供给不到一天的基础能量需要。另一方面三酰基甘油和蛋白质，特别是前者的数量，相对地颇大。理论上，单是储存的三酰基甘油一项就能提供正常成年人绝食 70 天所需的基础能量，对极肥胖的人可远远超过一年。若躯体蛋白质的一半也能动用，则理论上绝食还可更延长。在绝食的头一两天内饥饿使肝糖原很快下降到其正常值的 10%，然后在持续的绝食期内停留在几乎恒定的这个低水平上。肌糖原也下降，但非如此厉害。然而在总的绝食期间血糖浓度可维持相当恒定地在 80 毫克% 或 4.5 mM 约达四星期或更长些（表 30-6）。一旦容易代谢的糖原的供给耗尽时，则从腹部和皮下区脂库来的三酰基甘油的利用率就增加。伴随三酰基甘油氧化作用加速的开始血酮体含量上升而且呼吸商下降，从正常 RQ 约 0.82 下降到 0.7—0.8 之间。绝食开始后的几天之内，尿中排出的氮量开始增加。这一增加的主要形式是尿素，它是氨基酸分解代谢的含氮终末产物，表明躯体蛋白质开始进行

表 30-4 人尿的主要成分

尿的体积与成分随摄取的流质和膳食有很大差别；这些是一般 24 小时总体积 1200 毫升样品的数据

成分	克	尿/血浆浓度比的近似值
葡萄糖	<0.02	<0.02
氨基酸	0.5	1.0
氨	0.8	100
尿素	25	70
肌酸酐	1.5	70
尿酸	0.7	20
H^+	pH 5—8	达到 300
Na^+	3.0	1.0
K^+	1.7	15
Ca^{2+}	0.2	5
Mg^{2+}	0.15	2
Cl^-	6.3	1.5
磷酸根	1.2(以 P 计算)	25
硫酸根	1.4(以 S 计算)	50
HCO_3^-	0—3	0—2

降解。图 30-7 总结绝食期间主要各器官燃料的利用。

表 30-5 正常的 70 公斤男子与一个胖子在禁食开始时所用的代谢燃料
存活时间是按假定每天基础代谢消耗能量 1,800 千卡计算的

燃 料 类 型	燃料重量 Kg	热能当量 千卡	估计存活时间 月
正常 70 Kg 男子			
三酰基甘油(脂肪组织)	15	141,000	
蛋白质(肌肉为主)	6	24,000	
糖原(肌肉与肝)	0.225	900	
循环的燃料(葡萄糖, 脂肪酸, 三酰基甘油等)	0.023	100	
	总计	166,000	—3
胖 子			
三酰基甘油(脂肪组织)	80	752,000	
蛋白质(肌肉为主)	8	32,000	
糖原(肌肉与肝)	0.23	920	
循环的燃料	0.025	110	
	总计	785,030	—14

表 30-6 血中燃料浓度 mM

	葡萄糖	FFA	乙酰乙酸	β -羟丁酸	氨基酸
正常(吸收以后的)	4.50	0.5	0.01	0.01	4.5
禁食, 一周	4.50	1.5	1.0	4.0	4.5
五周	4.49	2.0	1.1	6.7	3.1

既然有大量三酰基甘油可资利用, 为何在绝食期间要分解躯体蛋白质呢? 由于哺乳动物机体不能储存蛋白质这问题就提得更有道理。因此可以预料, 利用躯体蛋白质作燃料就一定会损害依赖于蛋白质的某些特殊生物功能。

答案在于大脑需要大量葡萄糖。回忆起来人脑代谢率很高, 它在基础条件下用去总能量供给的 20% 或更多。此外, 正常情况下脑仅能利用葡萄糖作为燃料, 因而每日它需要 140 克葡萄糖。假若血糖水平下降过大并低于约 80 毫克% (约 4.5 mM) 的正常浓度时, 就出现中枢神经系统功能的明显紊乱。由于肝糖原在绝食的第一天后就几乎耗尽了, 故必须从其它身体来源制造血糖以满足脑的需要。红细胞也利用葡萄糖 (图 30-7)。然而, 红细胞降解葡萄糖成乳酸, 后者能由肝把它变回成葡萄糖。

虽然能从三酰基甘油的甘油那部分生成一些葡萄糖, 但哺乳类不能从脂肪酸生成葡萄糖。故绝食的人必须以躯体蛋白为其血糖的主要来源。大多数氨基酸的, 那些称为生糖原的氨基酸的, 碳骨架能产生丙酮酸或三羧酸循环的中间产物, 因此在肝中糖原异生作用过程中产生了血糖。在氨基酸的降解以生成血糖时在肝中引起它们的 α -氨基转变成尿素, 并从肾脏排泄出, 因此可以说明绝食的头几天后尿氮排泄的大量增加。从 100 克躯体蛋白质约能得到葡萄糖 57 克。因为脑的代谢需要是至高无上和压倒一切的, 为了维持血糖水平只好牺牲平时执行重要生物功能的躯体蛋白质。

为了保持血糖水平, 绝食期间躯体蛋白质的丧失有一定的顺序。由胃、胰和小肠分泌

的消化酶首先丧失；再不需要它们了，也不需要在制造消化酶时所需的其它酶类和蛋白质类了。对从肠道进来的营养素正常加工并转变它们为血浆蛋白，脂类和脂蛋白的那些肝脏里各种酶类也很早就消失了。然后开始消耗肌肉蛋白质，不仅是收缩纤维的蛋白质也消耗肌浆的酵解酶类。当肌肉蛋白质开始被取用时，绝食者就变得不爱活动了，这是对绝食的另一种生理适应。因此，为了保证中枢神经系统能起作用，绝食的机体在躯体蛋白质的利用上作了一系列精打细算。

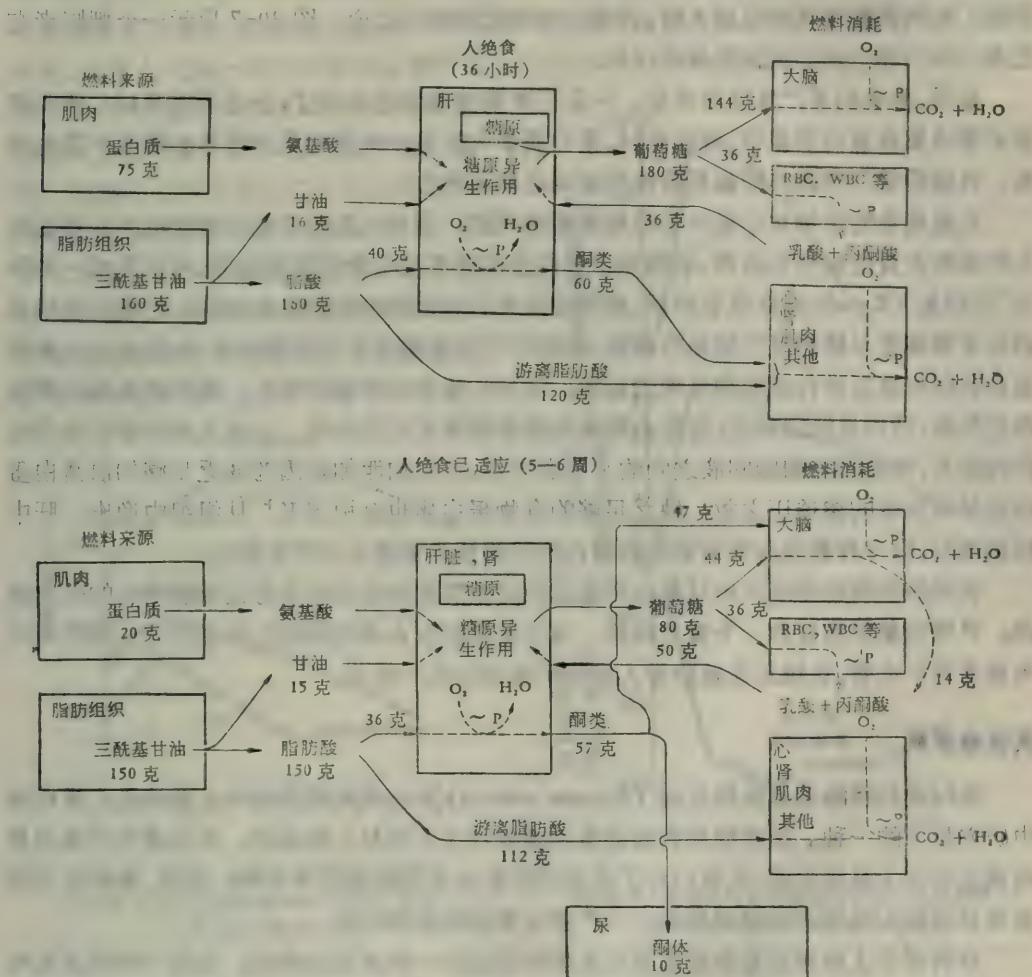


图 30-7 饥饿中躯体燃料的利用。上面的图解反映绝食 36 小时后的代谢情况；下面的是 5 至 6 周后，脑已适应于利用酮体后的图解。写出的数字是在基础条件下与绝食 36 小时每天能量输出 1800 千卡以及与绝食 5—6 周每天输出 1500 千卡。在 24 小时期内的。RBC 和 WBC 是红细胞与白细胞的缩写。[引自 C. F. Cahill, Jr., and O. E. Owen, p. 497 in F. Dickens, P. J. Randle, and W. J. Whelan (eds.), Carbohydrate Metabolism and its Disorders, 1968]

绝食的第一周内，躯体蛋白质的利用速率相当高，每天可能耗去 100 克，按此速度估计人体不能支持很久的绝食，假定有一半的躯体蛋白质能作燃料，大概也只能维持 30 天。然而，很快就开始另一主要代谢调整，导致躯体蛋白质的节约。绝食到 4—6 周之末，用去蛋白质就很少了，每天少于 12—15 克。这种代谢调整允许大量躯体蛋白的节省，是由于脑组织除能利用血糖外又获得利用血酮体，特别是肝中脂肪酸氧化产生的 D- β -羟丁酸，

作为燃料来源的能力。此时伴有血中 β -羟丁酸浓度的上升(表 30-6)。血中酮体增加与解除利用酮体作为燃料所需酶类的抑制作用[如 β -羟丁酸脱氢酶, β -酮酸 CoA 转移酶, 和乙酰 CoA 乙酰转移酶]相结合,使绝食的脑能利用 β -羟丁酸来代替(或外加)葡萄糖。脑此时从 β -羟丁酸的氧化获得颇大分额的能量,而 β -羟丁酸又来自于颇大储存的身体脂肪。机体因而可以从降解躯体蛋白质以制造血糖的需要的大部分中解脱。一旦作出这种调整,绝食者虽将继续降解躯体蛋白质,但直到脂肪供应完全用光为止分解速度将是最低的。在转到酮体代谢轨道上时,并未伴有明显的智力改变。图 30-7 显示一个肥胖者在绝食一周后和六周后代谢流量的比较。

最后,绝食的最严重阶段开始。一旦三酰基甘油供应耗尽了,全身所需基础代谢的能量必需由躯体蛋白质提供。就在此时,蛋白质最大的单一来源的肌肉质体必将被严重地消耗。饥饿的第三阶段亦即最后阶段的结局必然是死亡。

儿童绝食的生物化学是一个特别重要的问题,因为儿童还未建立能使成年人存活较长的那种大量的脂肪和肌肉。长期处于蛋白质摄取不足与慢性饥饿相似,可以形成一种称为“加西加”(Kwashiorkor 是非洲语,意指被抛弃的婴儿或早断奶之意)状态。出现这种状态的儿童常接受足够的富于淀粉的蔬菜,能提供代谢能量且能支持脑的功用,但没有足够的蛋白质以保持正常代谢的和生理的过程。这种儿童常有丰肥的面孔,但肌肉系统发育得很差很弱,特别是两腿如此,这是必需氨基酸摄取量不足的结果。这些儿童的腹部也因水肿而膨大,在血液与细胞间液之间的水平衡异常,这在加西加是因为缺乏足够的血清白蛋白以保持血浆的渗透压之故。缺乏足够的食物蛋白质也会引起 K^+ 从组织中逸出,肝中脂肪堆积,以一种称为血铁黄素的铁蛋白形式的铁异常地沉积在组织中。

饥饿的生物化学决不仅只是在严格监护的医院实验室里对志愿饥饿者所作的研究课题。饥饿也是现实世界一个重大问题,由于世界的农业潜力与人口增加之间的差距不可避免地扩大着,饥饿正在威胁着人类的不断增加的一部分。

真性糖尿病

此时我们将略述真性糖尿病 (diabetes mellitus) 中出现的代谢变化,此病是人类疾病中研究最多的一种。虽然糖尿病的某些主要症状在古代早已描述过,而且最初分离出胰岛素也在五十多年以前,但我们对于此病中的基本生化缺陷仍不清楚。此外,糖尿病仍旧是涉及美国人口的 2% 或更多一个严重而重要的健康问题。

在病理学上糖尿病是表现出不同类型和程度的一种复杂的疾病。它是一种家族性疾病,糖尿病的易感性有很大的遗传因素。此外,体育活动和饮食的质量对此病的发生有很大影响。在欧洲,第一次和第二次世界大战期间糖尿病的死亡率显著下降,但每次战后经济好转时发病率又回升很高。

急性真性糖尿病的主要症状是高血糖,常伴有糖尿和多尿症,即排出大量的尿。这两项症状就是此病名称的来由,diabetes 希腊文是虹吸的意思,而 mellitus 则是甜的意思。与此相对应,患者颇有饥饿和口渴之感,体重消退,且病情严重时有酮血症(血中酮体升高),酮尿症和酸中毒,即血的 pH 下降或血缓冲剂对酸的缓冲能力降低。慢性的或长期患糖尿病时会产生另一组症状。这些其中包括血管壁退化,尤其是小毛细血管和它们的基底膜退化。虽然血管这些变化会影响许多不同器官,但眼睛似乎对此特别敏感;确实如此,

长期患真性糖尿病，即令用胰岛素治疗，还是失明的一个主要原因。

已认明有糖尿病的人有两种主要类型：即青年发病的和成年发病的。青年发病型发生在生命的早期，常发展成更严重的症状，并且几乎可以肯定以后必会累及血管。成年型病发展于生命较晚时期，病情较轻，发病也比较迟缓。

除了有明显临床症状的糖尿病患者以外，有很多其它方面都正常的人，他们在功能上表现出有糖尿病倾向。糖尿病或糖尿病倾向可用葡萄糖耐量试验测出。按病人每体重一公斤口服试验葡萄糖一克，给与后几小时内跟着测定患者血糖含量。有时试验剂量可用静脉注射。正常人在约一小时内出现血糖略微上升到达 120—140 毫克% 左右，还不足以超过，约 160—180 毫克% 的肾阈值，这种浓度会使大多数正常人尿中出现葡萄糖。继这一血糖的上升之后在 2—3 小时内又迅速下降到达正常水平（图 30-8）。正常人血糖迅速下降是因为应答升高了的血葡萄糖水平从胰脏分泌的胰岛素增加而胰高血糖素的分泌则减少，引起组织利用葡萄糖的速率加快。（图 30-9）

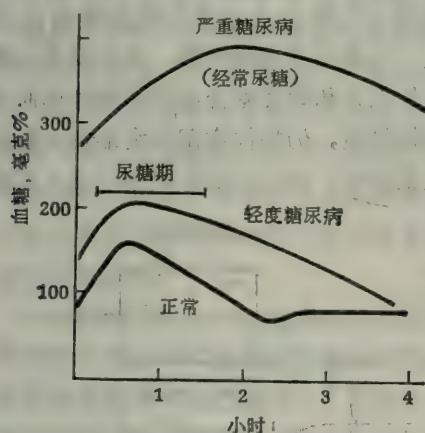


图 30-8 正常人、轻微的和严重的糖尿病患者的典型葡萄糖耐量曲线。试验方法在文内已加叙述。

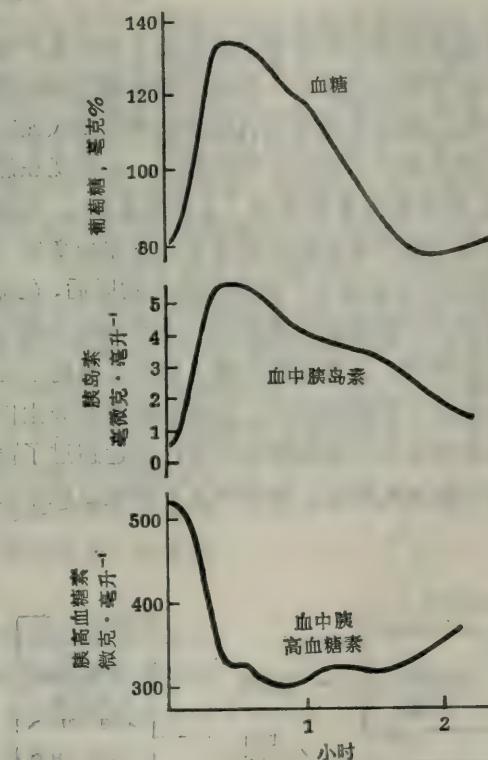
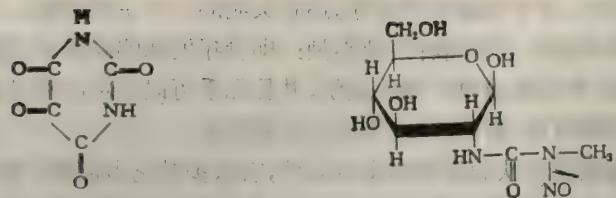


图 30-9 正常人在葡萄糖耐量试验中胰岛素释放的增加与胰高血糖素释放的减少

与此相反，糖尿病患者的血糖浓度有极大的增加，并在开始就高于正常人。他们也表现出高血糖周期的更为延长和缓慢的下降。他们也可能在摄取葡萄糖试验剂量后表现出（增加的）糖尿。（图 30-8）

用摘除动物胰脏或用毒物如四氧嘧啶、或用抗菌素链脲佐菌素以破坏胰岛组织，使动物造成糖尿（图 30-10），然后通过对它们的代谢研究，已经发现在糖尿病中发生的更加专一的生物化学变化和酶促作用的改变。

S. Soskin 和 R. Levine 早期的重要观察表明，患糖尿病的动物的周边组织在正常血糖含量水平上试验时缺乏从血中摄取己糖的能力。然而，假使血糖升高到严重糖尿病患者那样很高的水平（高到 500 毫克%）时，则己糖的摄取大量增加，几乎达到正常的速率。



四氮唑咤,有毒,能破坏某些种动物分泌胰岛素能力。
链脲佐菌素是来自 *S. achromogenes* 的一种抗菌素。它具有致糖尿和抗肿瘤两种作用,是 D-葡萄糖的一种衍生物。

图 30-10 致糖尿剂

这一重要发现表明葡萄糖代谢的基本缺陷更多地是由于血糖的运输失灵,它不能穿过骨骼肌和其它组织的膜而不是缺乏葡萄糖利用所需的细胞内某些酶类。虽然这些和许多类似的实验已经证明患糖尿病的动物葡萄糖代谢的主要缺陷确实是葡萄糖运输受损害,但也发现糖原异生作用的速率加强了。这表现在患糖尿病的动物特别是在喂以氨基酸混合物以后,尿中额外氮量增加(主要是尿素)。用尿中额外氮排出量和尿中出现的葡萄糖量对比表明生糖原氨基酸的碳骨架几乎完全变成了葡萄糖。这个结论已用实验证实:即当用¹⁴C 标记过的氨基酸给予患糖尿病动物以后,在排出的葡萄糖中回收了同位素的大部分。

糖尿病中葡萄糖代谢的另一主要缺陷是葡萄糖通过乙酰 CoA 转变为脂肪酸的过程几乎完全停顿。正常动物中摄入糖的总量的三分之一可能转变成脂肪酸,然后变成三酰基甘油储存于肝或脂库内。从氨基酸糖原异生作用的加速和葡萄糖合成脂肪酸的抑制表明糖尿病机体中虽然血糖水平早已远远超过了肾的糖阈值,仍将代谢调整到维持血糖浓度在尽可能高的程度。糖尿病人不断地从尿中失去葡萄糖,它们大部分来自于食入的氨

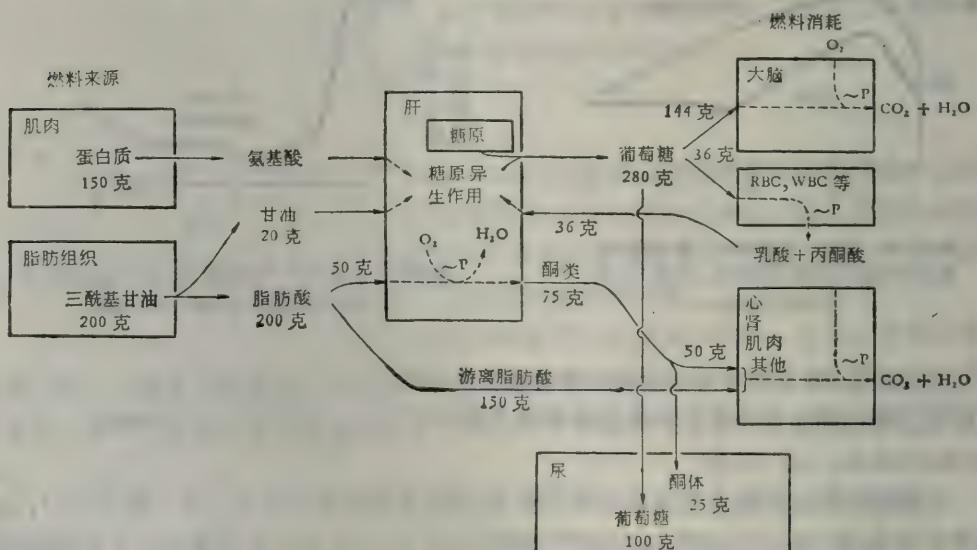


图 30-11 未经治疗的严重糖尿病人内源性燃料的来源及其分布的模式与消耗量。数字在基础条件下,24 小时期间假定总能支出为 2400 千卡。注意糖原异生作用对肌肉蛋白的大量消耗,以及除大脑与血细胞需要葡萄糖外,所有器官都以体内三酰基甘油作为能量来源。从肌肉蛋白质制造的葡萄糖的大部分在尿中丧失。[引自 G. F. Cahill, Jr., and O. E. Owen, in F. Dickens, P. J. Randle, and W. J. Whelan(eds.), Carbohydrate Metabolism and its Disorders, 1968]

基酸或躯体蛋白质，这就是严重糖尿病病人经常饥饿和体重减轻的原因，他们简直是“守着粮仓挨饿”。图 30-11 总结了严重糖尿病病人中主要营养素的代谢情况。

糖尿病动物中除脑组织外较少氧化葡萄糖作燃料。其它组织特别是肝，燃烧大量脂肪，肝中从脂肪酸生成的乙酰 CoA 的数量超过了三羧酸循环所能氧化的能力，过多的乙酰 CoA 变成了酮体，它大量出现在血液中(酮血症)和尿中(酮尿症)，这种情况称为酮病。

所有这些代谢紊乱都可给以胰岛素使其逆转，胰岛素能在正常血糖浓度下增加从血中移除葡萄糖的速率，增加肝中葡萄糖激酶，磷酸果糖激酶与丙酮酸激酶的量，抑制糖原异生作用特别需要的酶类的生物合成(因而抑制了从氨基酸生成葡萄糖的作用)，恢复转化葡萄糖为脂肪酸的正常速率，而且抑制脂肪酸氧化降解。结果血糖含量趋向正常，糖尿停止，血中和尿中的酮体退回到正常水平。对正常动物使用过量胰岛素，或对糖尿病患者使用超剂量胰岛素都能引起血糖下降到低于 80 毫克% 的水平。当血糖低于 20 毫克% 时可出现抽搐与昏迷，极大量胰岛素引起胰岛素休克。静脉注射葡萄糖能使它挽回。

从理论上说，有多种原因可引起糖尿病患者缺少胰岛素，如胰岛组织正常只不过数量减少，胰岛素原的生物合成有缺陷，胰岛素原转变成胰岛素的作用有缺陷，对高血糖作出反应时释放到血中来的胰岛素量不足，产生的胰岛素是有遗传缺陷的，或者胰岛素以异常的高速率受到破坏等。青年型糖尿病者胰脏中的胰岛素的数量不及正常量的 5%，因此当血糖升高时，未使胰脏放出明显的胰岛素。然而，在成年人糖尿病胰脏中胰岛素的总量可能十分正常，但对高血糖作出反应时它被释放进入血液却延误了。因此，对高糖浓度作出反应时可以有多种方式可使得血中有活性的胰岛素的浓度发生异常或缺乏。某些如甲苯磺丁脲一类药物(图 30-12)，对某些糖尿病疗效很好，它能促进已生成的胰岛素从胰岛细胞内释放出来。这种效应启发我们认为这样的病人能正常地制造胰岛素，但其释放机制有缺陷。

有些糖尿病人对胰岛素有抗药或不敏感的情况。在这种情况下可能并不缺乏胰岛素；而是由于其它激素如生长素或胰高血糖素的产生过多，后两种激素在维持葡萄糖体内平衡中起校对和平衡的作用以对抗胰岛素的活性。

为什么糖尿病人不仅在组织利用葡萄糖上有缺陷而且还似乎在代谢上均衡从氨基酸产生最大量葡萄糖和防止葡萄糖用于生成脂肪酸呢？一个古老的可能仍旧正确的假说：即糖原异生作用的加强与脂肪合成的削弱都是由于胰岛素缺乏所引起的生物代偿作用。由此看来，血糖浓度增高是因为可以克服葡萄糖运输不足，允许在没有胰岛素时周围组织仍能利用葡萄糖。另一方面，正如前面所指出的，胰岛素可能是广义的生长激素，它促进所有营养素进入细胞以及它们的储存和利用。

癌中代谢的相互作用

除糖尿病外的其它疾病中也出现各种器官之间代谢相互作用的改变。癌细胞的生长提供一个有趣的例子。癌细胞是由一个本来是正常的体细胞经永久性遗传改变而生成的。

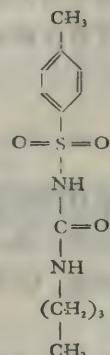


图 30-12 甲苯磺丁脲(1-丁基
3-P-甲基磺酰尿素)，能引起胰脏
释放胰岛素的一种药物。

这种改变称为恶性转化，可由于像 X 射线，来自太阳光中过多的紫外线照射等外界物理因素，或由各种致癌化学物质所触发。癌细胞生长颇具侵略性并不遵守组织形成的正常模式。它们这种不正常的生长模式往往不一定是成块的而是造成分裂的，有对附近细胞和组织正常活动发生干扰的倾向。

癌细胞有一种特别类型的代谢。虽然它们具有大多数代谢中心途径所需的一切酶类，但几乎所有各种类型的癌细胞都表现出酵解序列与三羧酸循环的整合的反常。癌细胞的氧消耗率比正常细胞的数值稍低。然而，恶性细胞甚至在它们的呼吸率接近正常时还倾向于利用葡萄糖 5 倍到 10 倍于正常组织所用量并把大部分糖变成为乳酸。这种在有氧情况下产生乳酸的现象称为有氧酵解。

仅在几种正常组织，如在红细胞，负荷着重工作时的骨骼肌和心肌，以及视网膜中才出现乳酸的有氧生成。癌细胞乳酸的有氧生成并不纯粹是一种体外人为矫作物而是也在体内出现。有氧酵解对癌细胞的生物能力学的净效应即在线粒体内除了从呼吸和氧化磷酸化产生的 ATP 以外，还有在线粒体外隔室中从酵解大量生成的 ATP。有人推测，癌细胞内调节酵解速率以配合三羧酸循环利用丙酮酸的速率的正常别构因素（即通过巴士德效应）有缺陷或发生改变。

癌细胞里这种代谢失调的最重要的系统影响是用去了大量血糖与相应地放出大量乳酸进入血液。正如发生在重肌肉工作中的那样，形成的乳酸再循环到肝内又经过糖原异生作用产生血糖。因为肝中从乳酸生成一分子葡萄糖需要投入六分子高能磷酸，而癌细胞从每分子葡萄糖转变成乳酸中只能获得两分子 ATP，故可把癌细胞看作是一种依赖于肝脏以取得它的大部分能量的代谢寄生物。除了能引起其它局部和系统的效应以外，大量癌细胞可看作是对宿主机体的很大代谢消耗。

摘 要

血液是从肠转运营养素到肝和其它组织，运输有机废物到肾脏，以及转运呼吸气体氧和二氧化碳的工具。血浆含有约 7% 的血浆蛋白，它们具有多方面的功用，特别是在转运脂类，脂肪酸，以及其它血液成分方面。其余的 3% 的固体为代谢产物、废物和无机离子。

肝脏是营养素加工和分配的主要器官。它可生成血糖，血浆脂蛋白以及通过血液分配氨基酸。它转变其它单糖为葡萄糖 6-磷酸，又转变后者为糖原，为乙酰 CoA，然后成脂肪酸；葡萄糖 6-磷酸也用于脂肪酸和胆固醇还原性合成中产生 NADPH。肝脏也使氨基酸脱氨，进行糖原异生作用，而且是尿素合成的唯一地点。它也生成并分泌胆汁盐和胆色素进入肠内。

脂肪组织或脂肪是另一主要仓库和燃料分配中心。它能储存大量三酰基甘油，后者是从肠以乳糜微粒形式接受过来的或者是在胰岛素的促进下从血糖制造的。按重量计算三酰基甘油含能量比糖原高，而且是以无水的形式储存的。当脂肪组织受到肾上腺素和其它激素的刺激通过依赖于环状 AMP 的脂酶的作用时，它就放出游离脂肪酸。游离脂肪酸结合在血清白蛋白上运往其它组织。脑用去身体耗氧总量的 20%，而且它在正常情况下只能利用葡萄糖作为燃料。心脏主要是用脂肪酸和酮体作燃料但当突然加上工作负荷时，它

能运用糖原的酵解转化成乳酸作为 ATP 的来源。骨骼肌也能用游离脂肪酸和酮体作燃料但为了突然爆发的能量则有赖于葡萄糖与糖原转化成为乳酸。肾脏在分泌尿的过程中将它们产生的 ATP 大部分用于主动转运葡萄糖, Na^+ 和 K^+ 。

在饥饿的身体中三酰基甘油的储存是能量的主要来源;可由躯体蛋白质作补充, 蛋白质通过糖原异生作用从氨基酸生成糖, 为脑提供血糖。通过代谢性的适应脑获得利用从脂肪酸氧化生成的血中酮体而不是葡萄糖作为能源的能力, 因而减轻躯体蛋白质的消耗。然而, 当三酰基甘油供给耗竭时, 躯体蛋白质, 特别是肌肉蛋白, 就被大量消耗。加西加是由于儿童食物中缺乏蛋白质的一种半饥饿的状态。

糖尿病是一种复杂的疾病, 但其主要表现形式有高血糖、糖尿、多尿、口渴和饥饿。严重的糖尿病中躯体的蛋白储存被用于产生血糖, 而后者的大部分又在尿中丧失。用葡萄糖耐量试验测出糖尿病人由于这种或那种原因在对血糖升高作出反应时缺乏将胰岛素释放入血中的能力。他们表现出从氨基酸来的糖原异生作用大量增加, 几乎完全不能把葡萄糖转变为脂肪酸, 以及从脂肪酸过量的产生酮体等。还有从氨基酸合成蛋白质也减少了。虽然糖尿病患者的主要缺陷似乎是不能将葡萄糖运输到肌肉和脂肪组织中去, 但胰岛素作用的精确方式还未经鉴定。

在有癌的动物里还有另一类型的代谢紊乱。癌细胞用去异常大量的葡萄糖并把它大部分变成为血中乳酸。在肝中净耗费大量 ATP 把乳酸再变回成为血糖。因而癌细胞是代谢上的寄生物。（本段文字为英文，且有较多错别字，故未翻译）

参 考 文 献

书籍

- Hoffman, W. S.: *The Biochemistry of Clinical Medicine*, 4th ed.. Year Book Medical Publishers, Chicago, 1970.
- Newaholme, E. A., and C. Start: *Regulation in Metabolism*, Wiley, New York, 1973: An extremely valuable book outlining the biochemistry and theory of metabolic regulation.
- White, A., P. Handler, and E. L. Smith: *Principles of Biochemistry*, McGraw-Hill, New York, 5th ed., 1973. The biochemistry of body fluids, renal function, and other physiological activities is described in detail.

论文

- Cahill, G. F., Jr.: "Starvation in Man," *N. Engl. J. Med.*, 282: 668 (1970). A summary of classical investigations.
- Fernstrom, J. D., and R. J. Wurtman: "Nutrition and the Brain," *Sci. Am.*, 230: 84—91 (1974).
- Garfinckel, D.: "Simulation of the Krebs Cycle and Closely Related Metabolism in Perfused Rat Liver; 1: Construction of a Model; 2: Properties of the Model," and succeeding papers on gluconeogenesis, *Comput. Biomed. Res.*, 4: 1—125 (1971). Use of computer modeling to analyze the central pathways of glucose metabolism.
- Levine, R., and D. E. Haft: "Carbohydrate Homeostasis," *N. Engl. J. Med.*, 283: 175—183, 237—246 (1970). An important descriptive review, in two parts, of the regulation of carbohydrate metabolism.
- Owon, O. E., A. P. Morgan, H. G. Keny, J. M. Sullivan, M. G. Herrera, and G. F. Cahill, Jr.: "Brain Metabolism in Fasting," *J. Clin. Invest.*, 46: 1589 (1967). A classic study showing the role of the ketone bodies.
- Renold, A. E., W. Stauffacher, and G. F. Cahill, Jr.: "Diabetes Mellitus," in J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, and D. S. Fredrickson (eds.), *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, McGraw-Hill, New York, 1972. An excellent short review of metabolism in diabetics.

习题

1. 计算出下列各化合物理论上的 RQ 值: (a)葡萄糖; (b)柠檬酸; (c)苯丙氨酸; (d)棕榈酸; (e)甘油和(f)三棕榈酸甘油酯。
2. 人类肝中醇脱氢酶如从酵母中来的酶一样能催化乙醇成乙醛的氧化作用。这样产生的乙醛在需要毗啶核苷酸的步骤中转变成乙酸, 而乙酸又通过前述过程转变成乙酰 CoA。试写出如人类肝中出现的, 包括一切有关磷酸化步骤在内的, 乙醇完全燃烧的平衡方程式。
3. 试计算下列化合物在典型的肝细胞内完全燃烧成二氧化碳和水时每一碳原子产生的 ATP 分子的数目: (a)葡萄糖; (b)乙醇; (c)棕榈酸; (d) 三棕榈酸甘油酯; (e) 亮氨酸和(f) 苯丙氨酸。
4. 当葡萄糖供应不足时, 脂肪酸不能为脑直接地作一种能源。但它们转变成 β -羟丁酸后就能很快进入脑细胞。写出下列过程, 包括一切有关的磷酸化步骤的平衡方程式:
 - (a) 变棕榈酸为 β -羟丁酸
 - (b) β -羟丁酸完全燃烧成二氧化碳和水。
5. 试比较棕榈酸直接燃烧成二氧化碳和水时与通过四分子 β -羟丁酸燃烧时所能提供的 ATP 分子的数目。
6. 当肌糖原的一个葡萄糖基单位转变成两分子乳酸而形成的乳酸又在肝中再变成葡萄糖时, 试计算所发生的 ATP 的净变化。

【任邦哲译 简士廉校】

第IV篇 遗传信息的复制、转录和翻译

在本书的最后一部分中，我们将讨论遗传的连续性和活机体进化所涉及的某些最基本的和中心问题的生化基础。遗传物质及其功能组成——染色体、基因、密码子以及突变单位等的分子本质是什么？为什么遗传信息的复制是这样准确无误？遗传信息最后如何转录和翻译成蛋白质分子中的氨基酸顺序，然后又如何组成细胞的特征性的三维结构？活机体是怎样发展具有自我复制的能力的？甚至，生命最早是如何起源的？

遗传学的分子基础知识，已获得非凡的进展，使生物学发生了一场学术上的革命，许多人认为这可与由达尔文的物种起源学说所引起的革命媲美。生物学的各个领域已经受到这些进展的深远影响。它们已经使细胞结构和功能中的某些最基本的问题渗透了新的见解，并导致生物化学科学具有更全面的和更广泛适用的概念的结构。在今天，严格地说，没有那一个生化问题可以离开其遗传学基础来进行研究。而且，这些观点大大地扩大了从分子水平探索生物学的能力，同时也鼓舞着生物化学家更有信心地去研究这样复杂的生物学问题，例如细胞分化、形态发生、免疫以及许多在不久前，还认为是生物化学不可能研究，而只能试探的其它问题。现在让我们简略地检阅一下导致生物化学进入新阶段的科学和知识的情况。

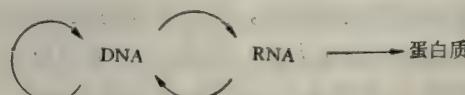
近代关于遗传学分子基础的知识来源于三个不同科学领域的理论和实验的进展，即经典遗传学、生物化学和分子结构。在遗传学领域中由于应用了X射线和其他能大大增加突变速率的诱变剂，以及应用了生命周期很短的微生物，例如霉菌、细菌和病毒等，极大地加速了实验进程。从庞大的群体中选择罕见的突变型和基因重组体的更有效的方法，导致描绘出具高分辨力的遗传图。这种图揭示了某些染色体上不同基因的顺序，同时证明了在一个已知基因上具有大量的可以受到突变的部位。遗传学领域中最有渗透意义的发展，促进了遗传学与生物化学的汇合。这些发展包括 G. W. Beadle 及 E. L. Tatum 从 1941 年开始的工作中提出来的“一个基因—一种酶”假说，以及 O. T. Avery 及其同事们在 1944 年发现了 DNA 含有遗传信息，并能传递此信息。

在生物化学领域中，由于层析技术的日益进步，使一些重要的实验的发展成为可能。这些就导致对许多蛋白质的组成进行了定量分析，阐明了它们的氨基酸顺序，而且还揭示了不同种类或具有不同功能的蛋白质的氨基酸顺序也不相同。同时建立核酸组成和共价结构的新层析方法的仪器也已出现。最重要的进展之一就是 E. Chargaff 发现 DNA 中某些碱基的克分子数是等当量的。后来这种“等当量”竟成为推导 DNA 的三维结构的一个重要资料。同位素示踪技术也起了巨大的作用，因为它使对核酸和蛋白质的酶促生物合成进行直接的实验研究成为可能。

在分子结构领域中，W. Astbury 和 L. Pauling 对纤维状蛋白质分子以及 J. C. Kendrew 和 M. F. Perutz 对球形蛋白质的构型进行了 X 射线衍射分析，产生了这种观点，即认为每一类蛋白质分子具有精确大小的专一构型，它决定蛋白质的生物学功能。但是启发分子遗传学发展的中心工作还是对 DNA 的三维结构的 X 射线分析。1953 年 J. D. Watson

和 F. H. C. Crick 假设的 DNA 双螺旋结构，不仅解释了碱基的克分子数是等当量，也解释了 DNA 特征的 X 射线衍射图象，而且还提出了关于遗传信息如何从亲代精确地传递给子代细胞的简单机制。这一学说迅速导致遗传学、生物化学和分子物理学的观念和实验研究明显的结合起来。

Watson-Crick 假说的迅速建立和发展，从而产生了 Crick 称之为分子遗传学的中心法则，这一法则说明遗传信息是沿 DNA 至 RNA，再至蛋白质而进行传递的。虽然这一学说最近又改进为决定遗传信息的保存和传递的三个主要过程的中心法则形式。



第一是复制，即 DNA 复制形成相同的子代分子。第二是转录，即 DNA 中的遗传信息转录成将被带到核糖体去的信使 RNA 的过程。第三是翻译，即遗传信息在核糖体上转译下来，它的 RNA 则是蛋白质生物合成时用来指导专一氨基酸顺序的样板。中心法则不仅因发现信使 RNA 而得到证明，而且也由于指明了基因中核苷酸顺序与由此基因决定的蛋白质的氨基酸顺序有线性关系，从而使中心法则得以证实。此外，已推导出信使 RNA 上对各种氨基酸的三联体密码词汇的“字典”，这是近代科学最大成就之一。

现在分子遗传学的中心法则已经有了可靠的证明。似乎许多重要工作已经做了；正如一位杰出的研究者指出：“这就是所谓的分子生物学”。但我们还只是粗略地看了它一眼。正好像在科学的许多领域中，打开了一个大门常常导向另一个大门，处于一种无止境的连贯中。现在让我们来看看今天我们所处的地位，还遗留些什么问题需要去解决。

近 20 年来关于遗传信息传递的分子基础的许多卓有成效的研究都是在原核生物，特别是大肠杆菌和细菌病毒上进行的。原核生物细胞只有一个染色体，即单一双股螺旋 DNA 分子，而且它们常常是以细胞的无性分裂进行繁殖的，在繁殖过程中子代细胞正常地只接受与亲代细胞相同的基因组 (genome)。在原核生物的生命周期中，细胞通常是以单倍体状态存在。所以细菌的遗传学可以在没有双倍体的真核生物所特有的显性和隐性遗传的复杂情况下进行研究，这些情况还涉及到孟德尔原理。此外，具单一“染色体”的病毒的遗传信息的传递问题甚至更简单，因为它只含有几个或几十个基因，相比之下，细菌却含有几千个基因。因为细菌和病毒比较简单，用它们进行遗传实验也快速有效。关于遗传信息传递许多基本的分子过程，我们现在已掌握了有关的具体知识，而且有信心认为这些过程在生物学中具有普遍性。尽管如此，正如我们即将讨论的，在原核生物中关于遗传信息的复制、转录和翻译的生物化学中许多细节还不知道，有待进一步研究。

但是，今天的分子遗传学已建立在一新水平上，这一水平揭示了由于在分化和进化程度上、复杂性和能力等方面原核和真核生物间巨大鸿沟所产生的一些仍未阐明的问题。因此，在解释真核生物的分子遗传学以及在其分化和发育中基因表达的调节等方面存在一些新的和困难的问题。虽然许多证据支持这样一种观点，即认为原核生物和真核生物间的遗传信息的复制、转录和翻译的基本分子类型是相同的，但在真核生物中仍有许多特殊的复杂性。真核生物比原核生物含有大得多的遗传信息，而且它是在几个或许多染色

体间进行分裂。真核生物的体细胞通常是双倍体，并含有比在单倍体的性细胞中多一倍的染色体。真核细胞的每一基因因此有二种形式或等位基因，其中一种是遗传上显性的，另一种是隐性的。真核生物通常是通过有性结合进行繁殖，在此过程中来自双亲的基因进行交换，通过重组结合掺入到后代的基因组中去。虽然在原核生物中有性结合或病毒感染时出现重组，但这并不是它们的无性分裂的正常过程。

真核生物复杂染色体的分子结构，来自不同染色体的各种不同基因的相互作用的方式，来自亲代的基因重组的分子机制，以及真核生物中基因表达的调控等等——这些都是些非常复杂而又未解决的主要问题。此外，真核生物不仅在细胞核中含有 DNA，而且在线粒体及某些其它细胞器中也含有。细胞核外的 DNA 是与细胞质遗传有关，这是一种非孟德尔方式遗传过程的表现形式，对此仍然了解很少。因此，在现代和将来的生物化学中，对遗传的生化及高等有机体的发育显然仍会有很多的——实际上是无止境的——争论。

【朱定尔译 任邦哲校】

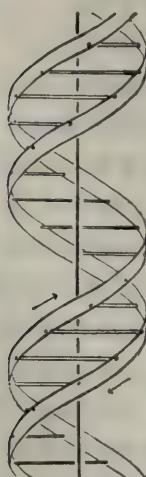
核酸的分子结构¹⁾

脱氧核糖核酸的结构

我们想提出脱氧核糖核酸(DNA)盐的一种结构。这一结构是具有重要生物学意义的崭新的形式。

Pauling 及 Corey 曾经设想了一种核酸结构，在发表前他们就曾热情地寄送了原稿给我们参考。他们设想的模型是由三条交织的链组成，磷酸基靠近纤维轴，碱基朝外。我们认为：这种结构有两个理由说明它不够完善。(1) 我们认为拍摄的 X 射线图谱所用的材料是盐，而不是游离酸。没有酸性氢离子，是什么力量维系这种结构在一起这一点是不清楚的，特别是当具负电性的磷酸靠近分子轴时会彼此排斥。(2) 某些 van der Waals 距离似乎太小。

Fraser (在排印中)也曾提出过另一种三链结构。在他提出的模型中磷酸根是朝外，碱基朝内，通过氢键连接起来。这种结构描述得比较粗糙，因此我们将不予评论。



此图纯系示意图，两条带表示两条磷酸-糖链，水平棒表示将链维系在一起的碱基，垂直线表示纤维轴。

现在，我们想提出脱氧核糖核酸盐的一种根本不同的结构。这一结构具有两条螺旋链，每一条链围绕同一轴盘绕(参见示图)。我们按照通常化学上的假定，即每一条链是由 β -D-脱氧核呋喃糖残基通过 3'，5' 连接而组成的磷酸二酯基。这两条链的关系(不包括碱基)是二重对称垂直于纤维轴。两者都是右手螺旋，由于是二重对称的，两条链中的原子顺序是反向而行。每条链大致与 Furberg's 第一号模型类似；即碱基是在螺旋的内侧，而磷酸根在外侧。糖的以及邻近糖的原子的构型与 Furberg's 标准构型相近，糖大致上与附着的碱基垂直。每一条链每隔 3.4 \AA 在 Z 方向有一残基。我们假设在同一条链上相邻的残基成 36° 角，因此在每条链上，每 10 个残基(即每 34 \AA)重复一次螺旋结构。磷原子与纤维轴的距离为 10 \AA ，因为磷酸是在外侧，阳离子就容易与之结合。

这种结构是开放式的，水含量相当高，在低水含量时，我们将会见到碱基歪斜，以致使结构更加紧密。

这种结构所以新颖，是通过嘌呤和嘧啶碱维系两条链的方式。碱基的平面垂直于纤维轴成对连接，即一条链上的一个碱基通过氢键与另一条链的一个碱基连接，所以两个碱基在相同的 z 坐标轴上，一个靠近另一个。这一对碱基中必须有一个是嘌呤，另一个是嘧啶，才能键合在一起。氢键是按如下方式构成的：即嘌呤第一位对嘧啶第一位；嘌呤第六位对嘧啶第六位。

1) J. D. Watson 和 F. H. C. Crick 的论文是现代生物化学的里程碑(全文引自 *Nature*, April 25, 1953, p 737)。数周后又发表了第二篇论文，其中对复制过程，作了更详尽的叙述。

如果假定在此结构中出现的碱基是最可能出现的互变异构形式（即酮式而不是烯醇式构型），可以发现只有专一配对的碱基才能键合起来。这些碱基对是：腺嘌呤（嘌呤）对胸腺嘧啶（嘧啶）及鸟嘌呤（嘌呤）对胞嘧啶（嘧啶）。

换言之，如果随意一条链上的腺嘌呤是组成碱基对的一个，那么从这些假设看来另一个碱基必定是胸腺嘧啶；鸟嘌呤和胞嘧啶也一样。一条单链上的碱基顺序看来似乎并不受任何方式的限制。如果只要能够形成专一的碱基对，那么只要给定了一条链的碱基顺序，另一条链的顺序也就自动确定了。

已在实验中发现，脱氧核糖核酸中，腺嘌呤与胸腺嘧啶含量之比，以及鸟嘌呤与胞嘧啶之比总是很接近于一。

如果以核糖置换脱氧核糖，则就不可能建立这种结构，因为额外的氧原子使 van der Waal 接触过于紧密。

过去发表的关于 DNA 的 X 射线数据，并不足以作为我们提出的结构的严格验证。就我们所知，它只是与实验数据大致相符，所以在没有更准确的结果验证以前，它只能认为是未经证明的。其中某些资料在随后的通讯中予以介绍，我们设计这种结构时并不了解那里介绍的结果细节。所以我们设计的结构主要是，但又不完全是，根据已发表的实验数据和立体化学论证。

我们也注意到这一问题，即我们设想的专一碱基配对，立即会提出一种可能的遗传物质的复制机制。

此结构的全部细节，包括构成此结构所假定的条件以及各种原子的一组坐标等，将在另处发表。

第三十一章 DNA 及遗传物质的结构

我们已经讨论过 DNA 的核苷酸基本单位及其主链的共价结构，这些都是首先应复习的内容（第十二章）。本章我们试回答三个重要问题：（1）DNA 作为贮存遗传信息的一种普遍形式的证据是什么？（2）什么是 DNA 分子信息贮存能力的分子基础？（3）遗传物质的某些功能组成：染色体、基因和突变单位的大小怎样？

DNA 使细菌转化

虽然早在 1869 年 F. Miescher 第一次在细胞核中发现了 DNA。直至 1944 年 O. T. Avery 及其同事们发现向一迅速生长的肺炎双球菌 (*Diplococcus pneumoniae* 通称肺炎球菌) 的一种无毒菌株的培养基中的某些细胞，只要加入从致病的肺炎球菌抽提的 DNA，可使之转化为一种可遗传的有毒的或致病的菌株。在这以前，并未能直接鉴定 DNA 携带遗传信息。早就知道，有毒的肺炎球菌，当在琼脂上培养时，可形成光滑的菌落（以 S 表示），因为它具有一种独特的多糖荚膜。另一方面无毒的或不致病的肺炎球菌菌株则形成粗糙的（R）菌落。在早期的研究工作者曾发现给小白鼠注射热灭活的毒性 S 型细胞，同时注射活的无毒性的 R 型细胞也能使小白鼠致死。从感染的小鼠中可分离和培养出活的 S 型细胞，这说明热灭活细胞中有一种热稳定的成分，能使活的 R 型细胞转变为 S 型细胞。O. T. Avery, C. M. MacLeod 和 M. McCarty 曾深入地研究了这一现象。他们发现从热灭活的 S 型细胞中分离出来的高纯度形式的 DNA，在体外加入到无毒性的 R 型细胞中，能引起转化。然而从 R 型细胞或除肺炎球菌外的其它细菌制备的 DNA 样品，并不能使 R 型细胞发生转化。此外，DNA 诱导的 R 型细胞的转化是一永久性的并可遗传的特征，因为经过几代培养，发现所有转化了的细胞的后代都是有毒的 S 型细胞。Avery 及其同事们因此作出结论认为：DNA 能够携带遗传信息。

然而这一结论并没有立即被人接受。有些研究工作者提出 DNA 制剂中含有一种诱变剂（mutagen），它能促进突变，使 R 型转变为 S 型。还有其他人提出：R 型转化为 S 型细胞实际上是由所用 DNA 样品中含有微量的某种专一的蛋白质所引起。最后，进一步的实验终于推翻了这些反对意见。后来又观察到在许多其他事例中，单独使用 DNA 都可引起细菌的转化。今天 Avery 及其同事的实验已被普遍认为是历史的里程碑。现已知道转化的 DNA 是以共价掺入到受体细胞 DNA 中去的，当宿主染色体被复制时，它同时被复制。

虽然 DNA 是遗传信息正常贮存的主要形式，通过复制传递给子代细胞，但今天我们知道在某些病毒中，RNA 也能贮存遗传信息。此外，有时遗传信息也可从 RNA 转移给 DNA，此即所谓反向转录的过程，将在他处讨论。

DNA 作为遗传物质的生化证据

从其它方面得到的证据,强烈地支持 DNA 是遗传信息的负荷者。首先,任何种属细胞或机体中 DNA 含量非常恒定,并不因周围环境或细胞的营养或代谢的变化而改变,这是遗传物质所希望有的性质。

其次,每一细胞中 DNA 的含量似乎与细胞的复杂程度成比例,也就是与所含的遗传信息量成比例。表 31-1 中的数据说明进化程度愈高,有机体的每一细胞中的 DNA 含量也愈多。每一个细菌细胞含 DNA 约 0.01pg(相当于湿重的 1%)($1\text{pg} = 1 \times 10^{-12}\text{g}$),而高等动物的组织中每个细胞中则约含 6pg 的 DNA。此外,高等动物的性细胞是单倍体,只有一套染色体,所含 DNA 量只有同种双倍体的体细胞的一半。任一种属高等有机体中每一双倍体细胞所含 DNA 量在各类型细胞中几乎都是恒定的(表 31-2)。在含 DNA 的动物及细菌的病毒中,它们的基因数相对较少,因此遗传信息也少,相应的它们的 DNA 含量也比较少。

细菌病毒的复制实验也指出 DNA 是遗传物质。A. D. Hershey 和 M. Chase 在 1952 年报道的实验结果具有特殊的意义。他们曾在含适当的同位素标志的前身物的培养基中,培养宿主细菌,制备成同位素标记在蛋白质或者标记在 DNA 中的病毒颗粒。用这

种标记的病毒颗粒,他们确定无疑地指出了病毒 DNA 能迅速进入宿主细胞,而病毒蛋白质则不能。紧跟着这些观察又证明在无病毒蛋白质存在下,病毒核酸单独具有感染性,并且能在宿主细胞中生成完整的病毒后代。

表 31-1 某些细胞和病毒中 DNA 的大致含量

种 属	DNA, pg/细胞 (或病毒颗粒)	核苷酸对的数目 (百万)
哺乳类	6	5,500
两栖类	7	6,500
鱼类	2	2,000
爬虫类	5	4,500
鸟类	2	2,000
甲壳动物类	3	2,800
软体动物类	1.2	1,100
海绵动物类	0.1	100
高等植物	2.5	2,300
真菌	0.02—0.17	20
细菌	0.002—0.06	2
噬菌体 T ₄	0.00024	0.17
噬菌体 λ	0.00008	0.05

表 31-2 鸡细胞中 DNA 的含量

组织	DNA, pg/细胞
心脏	2.45
肾脏	2.20
肝脏	2.66
脾脏	2.55
胰脏	2.61
红细胞	2.47
性细胞(单倍体)	1.26

表中数据对真核机体是指体细胞(双倍体)。

DNA 中碱基组成的当量

支持 DNA 是遗传信息的负荷者这一观点的最重要的生化证据之一,就是发现了 DNA 的碱基组成是与种属的来源有关。在可以应用可靠的色谱方法以前,还认为 DNA 中所发现的四种主要碱基——腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶——在所有的 DNA 分子中,都是以等克分子比率存在。后来,从 1949 年至 1953 年, E. Chargaff 及其同事们应

用定量色谱方法，分离和定量分析了从不同生物机体分离得到的 DNA 样品水解液中的四种碱基。他们和其他作者收集到的一些数据列于表 31-3 中，从这些数据中可作出下列重要结论：

1. DNA 的碱基组成随种属差异而有不同。
2. 从同一种属的不同组织中分离的 DNA 样品，具有相同的碱基组成。
3. 一种种属的 DNA 的碱基组成不随年龄、营养状态或环境变化而改变。
4. 在几乎所有测定的 DNA 中，腺嘌呤残基数目常与胸腺嘧啶残基数目相同，即 $A = T$ ，同时鸟嘌呤与胞嘧啶残基数目相等 ($G = C$)。显然很清楚嘌呤残基的总和等于嘧啶残基的总和，即 $A + G = C + T$ 。
5. 从很接近相关的种属中抽提出的 DNA，具有相似的碱基组成，而差异很大的种属很可能含有大不相同的碱基组成。实际上可以用 DNA 的碱基组成来进行有机体的分类。

表 31-3 DNA 碱基组成的当量(与精确当量的偏差是实验误差所致)

	碱基组成克分子%				碱基比率			不对称 比率 $\frac{A+T}{G+C}$
	A	G	C	T	A/T	G/C	Pu/Py	
动物								
人	30.9	19.9	19.8	29.4	1.05	1.00	1.04	1.52
绵羊	29.3	21.4	21.0	28.3	1.03	1.02	1.03	1.36
母鸡	28.8	20.5	21.5	29.2	1.02	0.95	0.97	1.38
鳖	29.7	22.0	21.3	27.9	1.05	1.03	1.00	1.31
鲑	29.7	20.8	20.4	29.1	1.02	1.02	1.02	1.43
海胆	32.8	17.7	17.3	32.1	1.02	1.02	1.02	1.58
蝗虫	29.3	20.5	20.7	29.3	1.00	1.00	1.00	1.41
植物								
麦胚	27.3	22.7	22.8	27.1	1.01	1.00	1.00	1.19
酵母	31.3	18.7	17.1	32.9	0.95	1.09	1.00	1.79
黑曲霉(霉菌)	25.0	25.1	25.0	24.9	1.00	1.00	1.00	1.00
细菌								
大肠杆菌	24.7	26.0	25.7	23.6	1.04	1.01	1.08	0.93
金色葡萄球菌	30.8	21.0	19.0	29.2	1.05	1.11	1.07	1.30
产气荚膜梭状芽孢杆菌	36.9	14.0	12.8	36.3	1.01	1.09	1.04	2.70
布鲁氏杆菌	21.0	29.0	28.9	21.1	1.00	1.00	1.00	0.72
藤黄八迭球菌	13.4	37.1	37.1	12.4	1.08	1.00	1.04	0.35
噬菌体								
T ₇	26.0	24.0	24.0	26.0	1.00	1.00	1.00	1.08
λ	21.3	28.6	27.2	22.9	0.92	1.05	1.00	0.79
φX 174, 单股	24.6	24.1	18.5	32.7	0.75	1.30	0.95	1.34
复制的	26.3	22.3	22.3	26.4	1.00	1.00	1.00	1.16

DNA 结构的 Watson-Crick 模型

从不同种属的 DNA 中所观察到的碱基组成的当量不同，提出了这样一个令人感兴趣的问

趣的可能性，即对某一定碱基当量是一致、而对另外的碱基当量不一致的 DNA 分子有一个结构上的机构水平。实际上已经设想 DNA 有一种专一的三维构象。因为天然的 DNA 溶液的粘滞性很大，似表明 DNA 分子是长而刚硬，而不是紧实和折叠的。而且向新鲜分离的 DNA 加热，可使其粘度和其它物理性质发生明显的变化，但是 DNA 主链中的共价键并没有破坏。由于这些观察以及 L. Pauling 及其同事们用 X 射线衍射来推断并卓越地发现了某些纤维状蛋白质多肽链中的 α -螺旋排列。而在十九世纪五十年代初期就不可避免地应用了这种强有力的方法来研究解决 DNA 的结构问题。事实上，还早在 1938 年就已经应用 X 射线衍射来分析 DNA 纤维了，那时候 W. Astbury 和 F. O. Bell 第一次观察到纤维状 DNA 样品，沿其纤维轴出现有规则的间距为 0.334 毫微米的反射。但是由于已知 DNA 不纯，当时对这一观察的意义是不清楚的。从 1950 至 1953 年期间，特别是由于 R. Franklin 和 M. H. F. Wilkins 的工作，从高度纯化的 DNA 纤维获得更精密的 X 射线分析数据。DNA 可制备成两种水化程度不同的形式即 A 型和 B 型，B 型是具生物学重要性的一种形式。发现 DNA 的 B 型具有二种周期性，主要的一种为 0.34 毫微米，另一种为 3.4 毫微米（图 31-1）。使人联想到在 α -角蛋白中所见到的主要和次要周期性。在这个时期的前后，许多实验室积累了一些关于嘌呤、嘧啶碱基以及核苷酸空间结构的 X 射线分析的数据。提出 DNA 分子的三维构象模型的时期已经成熟，这模型应可用来说明已知碱基的空间构型和 DNA 结构中所见的周期性，以及某种碱基的当量。DNA 分子怎么会如此高度精确地进行复制这样一个普遍的疑问大大地增加了人们对问题的兴趣。如果遗传信息如同所设想的那样是以 DNA 中的专一碱基顺序编码的话，那末这种顺序又如何能精确地进行复制呢？

1953 年，J. D. Watson 和 F. H. C. Crick 根据 Franklin 和 Wilkins 的 X 射线的数据以及 Chargaff 观察到的碱基组成等当量，假设了 DNA 的一种精确的三维结构模型。这种模型不仅能解释 DNA 的许多已知化学和物理性质，而且也提出了一种遗传信息能被精确地复制的机制。

DNA 结构的 Watson-Crick 模型（图 31-2），提出两条右手螺旋的多核苷酸链，围绕同一轴呈螺旋状旋转而形成一个双螺旋。这两条链或股是反向平行的，即其核苷酸间的 3',5'-磷酸二酯键反方向而行。由于两条链是这样盘绕着以致它们不能分开，除非折散螺旋。这种螺旋称为相缠型（plectonemic），每股链的嘌呤和嘧啶碱堆集在双螺旋的内侧，其平面彼此平行，并与双螺旋的长轴垂直。一股链的碱基在同一平面与另一股链的碱基配对。两股所提供的碱基对必须是某些能彼此互相以氢键结合而且放在这一结构中恰巧适合的碱基对。这种被允许的配对有 A-T 和 G-C，这又恰好是 DNA 中表现为等当量的碱基对。图 31-3 表示它们如何形成氢键的。不允许配对的嘌呤 A 和 G，因分子太大，对于只有 2.0 毫微米厚的螺旋来说是不适合，而不能配对。

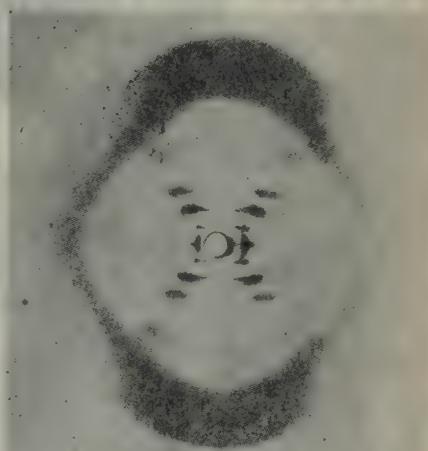


图 31-1 1952 年末 R. Franklin 拍摄的 B 型 DNA 的 X 射线衍射照片。中心区交叉十字反射表示螺旋结构，常称之为“螺旋交叉”，在顶部和底部深暗区则系由垂直于纤维轴的碱基紧密堆叠形成的。（引自 James D. Watson, The Double Helix, 1968）

的嘧啶碱 C 和 T，在 2.0 毫微米的螺旋内则空间相距太远，以致于不能互相形成稳定的氢键。能够配对的碱基 A-T 和 G-C，不仅大小相同，而且它们都比 A-G 和 C-T 能以更强的氢键连接。因此，Watson-Crick 双螺旋不仅含有以氢键连接的碱基对可能最多，而且这些碱基对也表现出最好的配合和最大的稳定性。

Watson-Crick 在解释 X 射线方法中所观察到的 0.34 毫微米周期性时，曾设想碱基是彼此从中心到中心相距 0.34 毫微米而排列起来的。在双螺旋中每一个完整的螺旋恰好有 10 个核苷酸残基，这可解释有 3.4 毫微米的次级重复间距。理论上 DNA 还可能有其它的螺旋形式，但是不可能有天然 DNA 中所见那种沿长轴出现的 0.34 毫微米的重复间距。Watson-Crick 双螺旋的直径约 2.0 毫微米，具有一个浅沟和一个深沟，相对疏水的碱基是与水隔开的，而在双螺旋的里面；而极性的糖残基和带负电荷的磷酸根，则位于外侧，暴露在水中。这种双螺旋所以稳定，不仅因为有互补碱基对的氢键，而且也因为排列的碱基间有电子的相互作用和疏水作用。

双螺旋 DNA 的两条反向平行的链上的碱基顺序和组成并不相同（图 31-4），相反地，两条链彼此互补：即一条链上有腺嘌呤，另一条链上则有胸腺嘧啶或者相反。同时，如一条链上有鸟嘌呤，而另一条链上则有胞嘧啶或者相反。

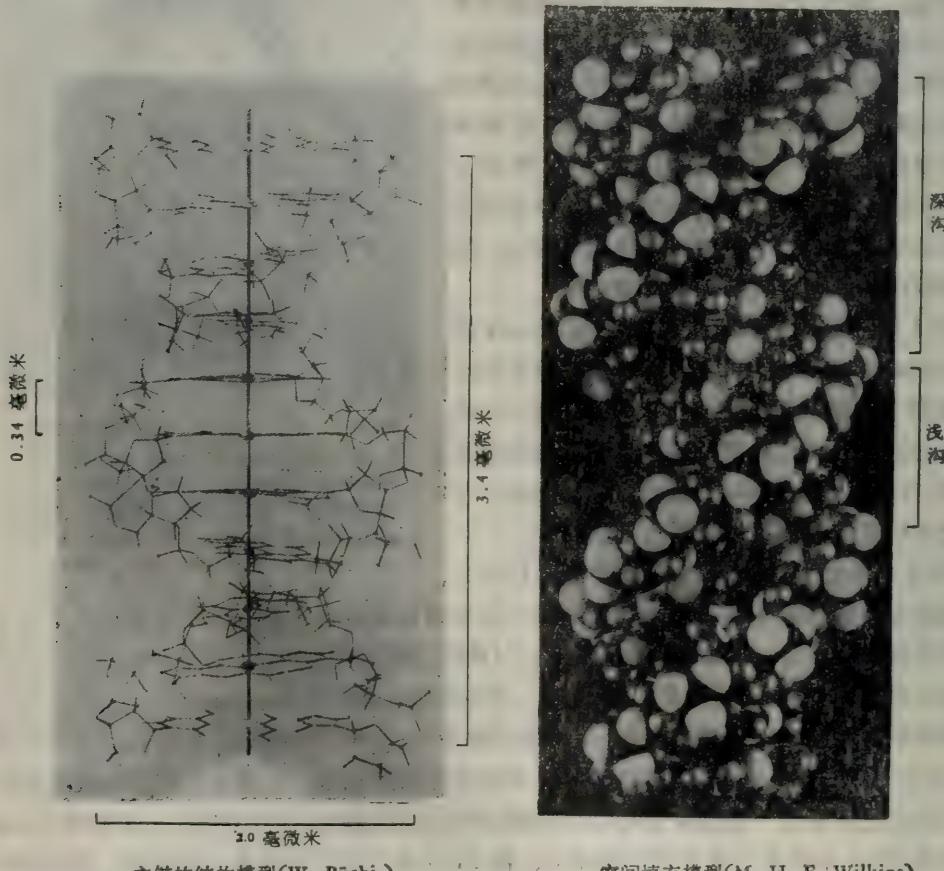


图 31-2 DNA 结构的 Watson-Crick 模型

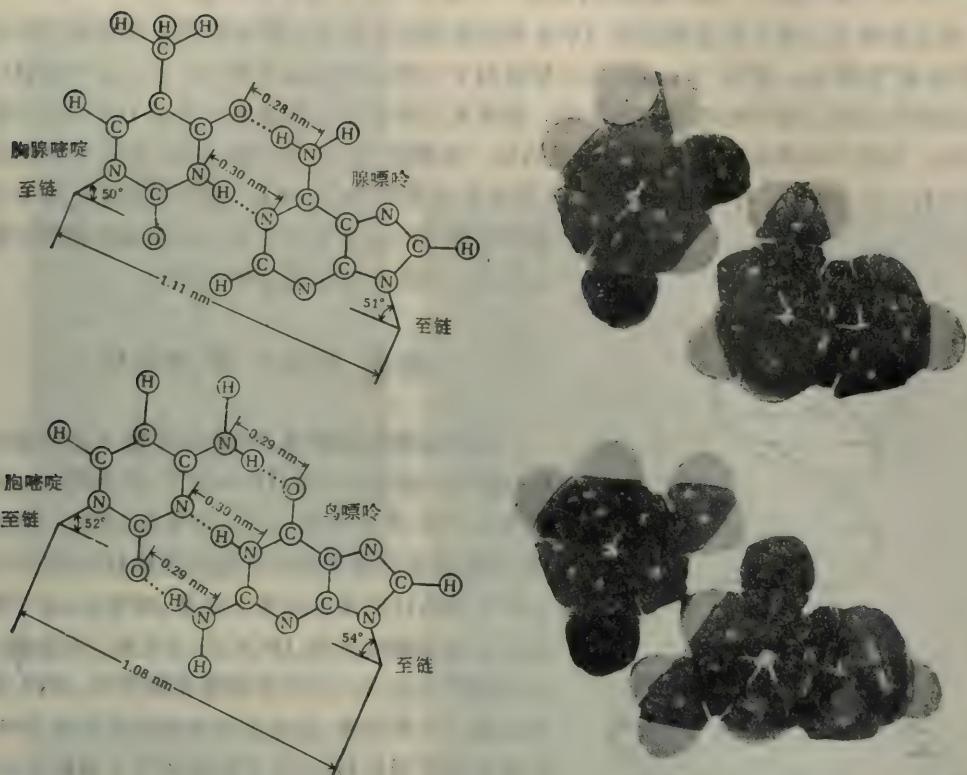
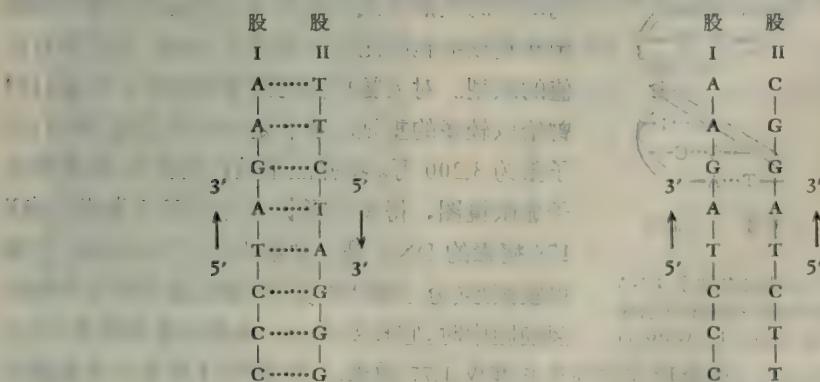


图 31-3 氢键连接的碱基对——腺嘌呤-胸腺嘧啶和鸟嘌呤-胞嘧啶——的结构标尺图和空间填充模型，前者具有两个氢键，后者有三个。鸟嘌呤-胞嘧啶互相比较靠近，较为坚实，因此较腺嘌呤-胸腺嘧啶碱基对的密度稍大。(引自 L. Pauling and R. B. Corey)



由 Watson 和 Crick 提出的 DNA 的互补性，股 I 和股 II 从上面拿下放在平行反向平行链。注意碱基配对的反向平行链的极性；注意碱基并不互补。在碱基组成和顺序上都不相同。

图 31-4 DNA 链的极性

DNA 的双螺旋结构还推论出 Watson-Crick 假说的第二要点，即关于遗传信息准确复制的机制。因为 DNA 双螺旋中的两股链在结构上是彼此互补的，所以包含有互补的信息，当细胞分裂 DNA 复制时，设想就发生两股链的复制，所以每一股母链是决定新的互补链的碱基顺序的模板。复制过程的最终结果是形成了两个子代 DNA 双螺旋分子，每

一个子代分子都与亲代 DNA 相同,而且每一个含有一股来自亲代的链。(图 31-5)

经过好多年才用实验直接证明 DNA 中两股链的反向平行的极性和上述复制过程中的“半保留”的性质。然而 Watson-Crick 假说对于阐明遗传信息转移的分子基础而设计的实验的性质起了适时的和深刻的影响。很多其它种类的证据迅速支持了 DNA 的双螺旋结构。这里可举例说明。已知分子量的均一天然的 DNA 分子的长度,例如某种细菌病毒中较小的 DNAs,可用电子显微镜直接准确地测得(图 31-6)。观察得到的已知分子

量的病毒 DNA 分子的长度与从双螺旋模型计算而推测出来的长度是很好地一致的。

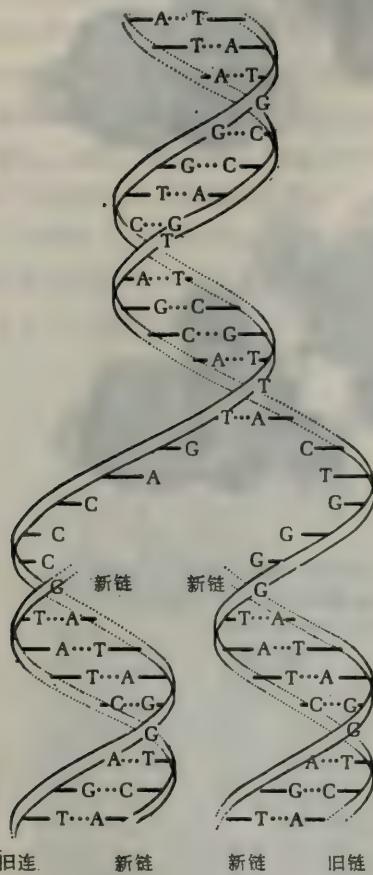


图 31-5 Watson 和 Crick 提出的关于 DNA 复制的机制。互补链分开,每一股链作为合成互补子链的模板。(引自 James D. Watson)

分子量 340 万)(图 31-6)。单股形式的外形长度仅 1.77 微米。 λ 和 ϕ X174 病毒有很重要的实验意义,将在第卅二章更详细地讨论。较大的噬菌体 T_2 的 DNA 也示于图 31-6 中。从表 31-4 所列数据可见双股 DNA 分子的外形长度与其分子量成一简单比例;外形长度为 1.0 微米,约相当于 2.0 兆道尔顿,含有约 3,000 碱基对。

虽然 ϕ X 174 DNA 是单股圆形的,在多数情况下病毒 DNA 是线性双股分子。然而线性病毒 DNA 表现有些典型的结构特征,这指出它们在最初形成的是圆形或者在复制前转变为圆形,这一观点称为“环形法则”(the “rule of ring”)。某些线性病毒 DNA,例如噬菌体 λ ,有“粘连”末端(“sticky” ends)。这些双股 DNA 的 5'-末端,如同单股一样,伸

病毒 DNA: 环形法则

根据从细菌细胞或动物组织的酚水溶液或中性盐溶液中抽提出的 DNA 样品,用物理方法测得其分子量,多少年来一直认为是在 1,000 万数量级。但是现在已知大多数完整的天然 DNA 分子比上述早期估计所指出的要大得多。事实上,由于细菌和动物细胞的天然 DNA 分子太大,不容易分离成完整的分子。因为在抽提和操作中,DNA 容易被切应力所折断。甚至简单的搅拌或吸取 DNA 溶液也能使天然 DNA 分子断裂为分子量约 1,000 万左右的碎片。

另一方面,细菌病毒的 DNA 分子较容易得到均一的天然形式(表 31-4);它们可用来作为细菌和真核细胞的比它大很多的 DNA 分子的有价值的原型。对大肠杆菌的微型噬菌体 λ 和 ϕ X174 曾给以较多的重视。前者是一线形双股 DNA,分子量为 3,200 万。将样品平铺在格板上,测量其电子显微镜图,得其外形长度约为 17.2 微米。 ϕ X 174 病毒的 DNA 是一种最小的 DNA 病毒,它是单股圆形(分子量 170 万);然而进入宿主大肠杆菌细胞中时,它转变成为一双股能复制的形式



0.25 微米

两个环状 ϕ X174 DNA 分子。上面一个是双股链。下面一个是“卷曲”的单股分子。



1.0 微米

T_2 DNA。视野左侧可见大肠杆菌的质粒。



1.0 微米

R. Davis

λ DNA (环形)

图 31-6 噬菌体 ϕ X174、 λ 及 T_2 的 DNA 的电子显微镜图。

出在 3'-末端外；在这些末端上的 12 个核苷酸是互补的，因此很容易配对形成圆形，然后在 DNA 连接酶作用下以共价键封闭连接起来。而且某些线形病毒 DNA 还表现有末端重复，即在 3'-末端出现的碱基顺序在同一股的 5'-末端重复这一顺序。当核酸酶作用于这种顺序时，导致形成互补粘连末端，进而生成共价环形。几种病毒 DNA 的另一独特的结构特点是它们并没有独特的碱基顺序，而是含有一群分子其顺序互相呈环形排列。环形排列可由下述三种线形双股 DNA 为例说明，其碱基编有号码：

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'
3	4	5	6	7	8	9	10	1	2
·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	1'	2'
7	8	9	10	1	2	3	4	5	6
·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
7'	8'	9'	10'	1'	2'	3'	4'	5'	6'

表 31-4 某些病毒 DNA 的大小

	外形长(微米)	重量(兆道尔顿)	G+C百分含量
大肠杆菌噬菌体			
φX174, 单股链	1.77	1.7	42
φX174, 双股链	1.64	3.4	42
λ	17.2	32	49
T ₂	56.0	130	35
T ₄	12.5	25	48
动物病毒			
单纯性疱疹病毒	35.0	68	68
多型瘤病毒	1.56	3.1	48

用核酸外切酶和 DNA 连接酶的作用使互补的粘连末端暴露出来，则这些环形排列的线形 DNA 显然可以形成相同的环形分子。

病毒 DNA 的另一特征是它们的一些碱基被修饰了。Feven 噬菌体含有羟甲基胞嘧啶而不是胞嘧啶；另外，羟甲基胞嘧啶的羟基常常是与葡萄糖基结合的。这些修饰保护了病毒 DNA 免得被宿主细胞的核酸内切酶所降解。

虽然“染色体”一词，原来是指真核细胞核经特殊染色技术后在显微镜下观察所见的结构，现在则更不太严格地用以指细菌以及病毒的遗传物质。

细 菌 DNA

大肠杆菌及其它细菌完整的天然 DNA 分子，由于其分子较大，难以分离并用标准的流体动力学方法进行研究，但是也获得某些成就。细菌 DNA 分子不仅曾用电子显微镜进行了观察，而且还进行了放射自显术研究。大肠杆菌的染色体看来含有一个简单而巨大的双股 DNA 分子，分子量约为 2.8×10^9 ，厚约 2.0 毫微米，外形长约 1,360 微米 (1.36 毫米)。大肠杆菌 DNA 含有 400 万个核苷酸对 (每一对的平均分子量为 670)。这种巨大的 DNA 分子是一封闭的环，不严格地可称之为圆环。这与大肠杆菌的单个染色体的遗传图是圆形的这一事实是符合的。这种细菌的染色体紧密和坚实地环绕核区，并以某些 RNA 维系在一起，这些 RNA 形成浓聚染色体的骨架或核心。而 DNA 分子则集合成 50 个或更多的高度扭曲的超螺旋环。(图 31-7)

除细菌中的单一环形染色体外，细菌细胞中各处还含有 1—20 个更小的圆形双股 DNA 分子，称为质粒 (plasmids)。它们的大小类似病毒 DNA，在 5 至 100 兆道尔顿的范围内。它们和染色体一起以固定数目进行复制。它们的功用还不清楚，但其中有些称为

附加体(episomes)的，能掺入宿主细胞的染色体中去。当性结合时，质粒可以从一个细菌细胞转移到另一细菌中去，然后在受体细胞中给予新的表型特征。

真核细胞染色体

真核细胞的核含有几个或许多核染色体，取决于种属的不同(表 31-5)。每一个染色体含有一个很大的 DNA 分子。对高等生物机体细胞中个别 DNA 分子的大小，了解很少。然而果蝇的染色体最大，发现它是一长约 4.0cm 的双股 DNA 线形分子，分子量接近 80×10^9 ，比大肠杆菌的染色体差不多要大 40 倍。在一个哺乳类动物细胞内存在的所有 DNA，假设是双螺旋的话，计算其总长度约为 2 米。这相当于 5.5×10^9 碱基对。

表 31-5 不同种属的正常染色体数

原核生物(单倍体)	
细菌	1
真核生物(双倍体)	
果蝇	8
红苜蓿	14
家豌豆	14
蜜蜂	16
玉米	20
青蛙	26
水媳	30
狐	34
猫	38
小鼠	40
大鼠	42
家兔	44
人	46
鸡	78

真核细胞的细胞核中 DNA 的超结构机构是很复杂的，并且在细胞分裂周期中有明显的变化。在间期(细胞有丝分裂间的时期)真核细胞核含有不规则的网状染色质。这样命名是因为它与碱性染料着色较深(图 1-9)。这时染色体还没有分开。在有丝分裂前期的最后阶段，染色体变成最清晰可见。

体细胞的染色质丝的直径约为 20 毫微米。它们含的二种主要组分(DNA 和一种碱性蛋白质——组蛋白)的含量大致相等。此外，染色质还含有某些酸性的非组蛋白的其它蛋白、某些酶蛋白如 DNA 聚合酶，以及胞核 RNA 和某些脂

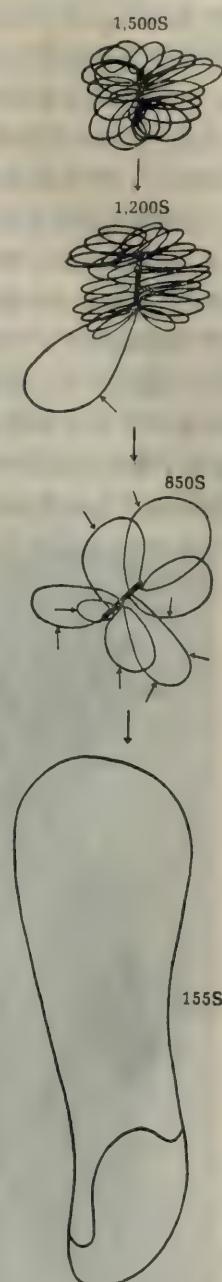


图 31-7 大肠杆菌的染色体是由一很大的超螺旋环双链组成，盘绕多次，并以某种 RNA 维系在一起。连续的单股链接头痕迹(箭头所示)使超螺旋环松开，直至整个分子解开并生成一松开的双链圆环，然后进行复制。[引自 A. Worcel and E. Burgi, *J. Mol. Biol.*, 71: 143 (1972)]

类等。组蛋白是比较小的高度碱性(即在 pH 7.0 带正电荷)的蛋白质,分子量在 10,000 至 20,000 范围内(表 31-6)。根据它们的赖氨酸与精氨酸的相对含量可分为五大类。某些组蛋白的氨基酸顺序已经知道。通过蛋白激酶的作用,组蛋白中某些丝氨酸羟基被酶促磷酸化。一般认为组蛋白分子有规律地排列在 DNA 双螺旋的深沟中。组蛋白中重复出现的正电荷与 DNA 的带负电荷的磷酸根形成静电联合,使 DNA 更加稳定和更为柔韧。在染色质丝中,DNA 的双螺旋和其所联合的组蛋白一起再以螺旋盘绕,并多次向前向后折叠。这些染色质丝反过来又形成许多环而一起结合在着丝粒上。曾经计算人类染色体 13 含有一长约 32,000 微米(3.2 厘米)的 DNA 分子,环绕形成一染色单体(chromatid),长约 6 微米,直径约 0.8 微米。组蛋白是包含在真核细胞染色体 DNA 的超螺旋结构中,或者是作为结构组成部分或者是掩盖或抑制 DNA 的特殊节段,使之不能转录。这些节段能够展开,因而为了回答某些分子信号可以等待转录。图 31-8 是表示人类细胞的 46 个染色体中的一个染色体的电子显微镜图。对果蝇唾液腺细胞中异常巨大的染色体进行了研究,提供了染色质丝分子机构的重要线索。它们包含伸展的 DNA-蛋白质丝节段,并被一些高度折叠的细丝组成的带分隔开来(图 31-9)。曾经提议折叠区的“疏松部分”是裸露

而展开的待转录的 DNA 环。至于真核细胞染色体的酶促复制和转录将在另章讨论,并提出许多拓扑学的和几何学的问题。



图 31-8 人类染色体 12 的电子显微镜图。人类染色体中含有约 15% DNA, 10% RNA 及 75% 蛋白质。它们是由长染色质丝组成, 染色质丝的直径约 20—30 毫微米, 长约 700—800 微米。认为每一染色质丝含有一个 4 厘米长, 和以超螺旋排列的 DNA 双螺旋, 并且以蛋白质围着 DNA 缠绕形成。(33,750×)(引自 E. J. DuPraw)

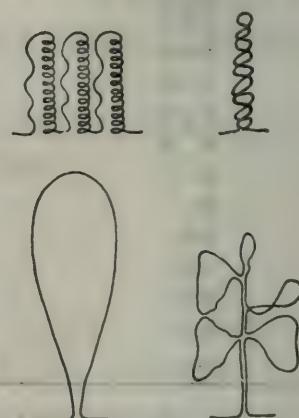


图 31-9 真核细胞染色体的结构示意图。现在还不可能对染色体结构提出一种简单的满意的模型, 曾经给予过恰如其份的描述, 比喻像在通心粉厂里倒霉的一天一样。上图表示每个染色体丝(参看图 31-8)似由一被组蛋白围绕的双螺旋 DNA 构成, 并且紧紧地盘绕着。例如 G. P. Georgiev(左上图)R. M. Richard 和 J. E. Pardon 提出的模型(右上图)。下图表示在复制时这种盘绕细丝又松开, 左下图为 Georgiev 提出的模型, 右下图为 D. E. Comings 和 T. A. Okada 提出的模型。

表 31-6 组蛋白的种类

根据分级分离方法不同，有二种不同的命名系统来表示五类组蛋白；其组成随种属而异。

类别	含量最丰富的氨基酸, %	残基数目	分子量
I = f1	赖氨酸, 27	207	21,000
IIb2 = f2b	赖氨酸, 16	125	13,800
IIb1 = f2a2	赖氨酸, 11 精氨酸, 9	129	15,000
III = f3	精氨酸, 15 赖氨酸, 10	135	15,342
IV = f2a1	甘氨酸, 15 精氨酸, 14	102	11,000

真核细胞线粒体中所含的 DNA 与细胞核中发现的完全不同。线粒体 DNA 是双股环形的，但是其分子量仅约 1000 万，因此从大小来说它类似小的噬菌体的 DNA。线粒体的 DNA 在碱基组成方面也与同一细胞的胞核的 DNA 不同。每一线粒体约有四至六分子的 DNA，但是在体细胞中线粒体 DNA 的总量远少于细胞 DNA 总量的 1%。高等植物的叶绿体中也含有 DNA。线粒体中 DNA 有一小部分是以交织的圆环形式存在，称为环连二聚体 (catenated dimers) (图 31-10)，并认为它是在线粒体 DNA 复制过程中形成的。

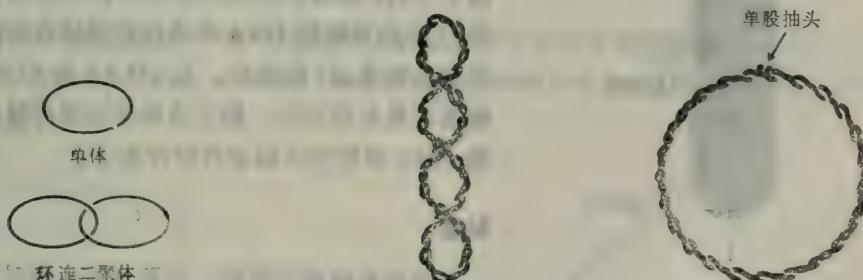


图 31-10 环形线粒体 DNA 的形式

从一股抽头解开超螺旋扭曲的结果

图 31-11 环形 DNA 的超螺旋

环形 DNA 的超螺旋

从病毒、细菌和线粒体中小心地分离出的天然形式环形双股 DNA，常常形成超螺旋或超扭曲 (图 31-11)。当 DNA 的每一单位长度中所含的碱基比在双螺旋中正常所含的数目为多时就会形成超螺旋。由于反向或负向扭曲结果使整个环形 DNA 结构补偿或解除了这种扭应力。在下列情况下这种超螺旋将“松开”：断裂 DNA 的一股链，随即又重新封接起来；在碱基对中间插入某种化学物质例如溴化乙锭 (ethidium bromide) 或与某种蛋白质结合等。

DNA 在溶液中的性质

小分子天然 DNA 或大分子 DNA 片段的溶液都能很容易地用物理化学方法进行研

究；它们共同具有一些独特的性质。

酸碱性质

DNA 中组成相邻单核昔间的连接桥并重复发生的次级磷酸根具有颇低的 pK' 值，在

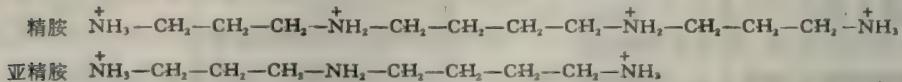


图 31-12 精胺和亚精胺

4 以上的任何 pH 值时能被完全电离，因此 DNA 是强酸性的。前已述及这些磷酸根位于双螺旋的外周，暴露于水中。它们与二价阳离子如 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 以及多阳离子的胺类精胺和亚精胺能强烈地结合（图 31-12）。在许多病毒和细菌中发现精胺和亚精胺能与 DNA 相结合。结合在双螺旋 DNA 沟中的多胺既能稳定 DNA 分子，也能使 DNA 更为柔韧。

因为不同碱基与氢结合的性质决定于它们的离子形式，而离子形式又取决于 pH（参看第十二章），因此双螺旋 DNA 中通过氢键结合的碱基对的稳定性是 pH 的函数。在 pH 4.0 至 11.0 之间，碱基对是最稳定的。超出这种非生理界限，双螺旋 DNA 就变成不稳定并松开来了。

粘度

因为双螺旋的刚性，以及 DNA 相对于其较小的直径来说是极长的，所以即很稀的 DNA 溶液，也是高粘性的。粘度测定常用以追踪双股DNA分子的解开或变性过程。DNA分子极长的另一结果是当 DNA 扩散时，它将携带极大的溶液，溶液量比它本身体积要大 10,000 倍。因此，只有在极稀的溶液中，DNA 才表现有溶质的理想性质。

沉降行为

可应用早期研究蛋白质的超离心法来测定 DNA 样品的沉降系数和分子量。由于 DNA 分子的极长性和 DNA 溶液的高粘度，所以须在一系列低浓度 DNA 溶液中进行沉降测定，然后作图延伸

至 DNA 浓度为 0，以求其沉降系数。又 DNA 在 260 毫微米波长处有强的光吸收，因此常借测定 260 毫微米波长处的光吸收来确定 DNA 的沉降界面。在蔗糖密度梯度溶液中的沉

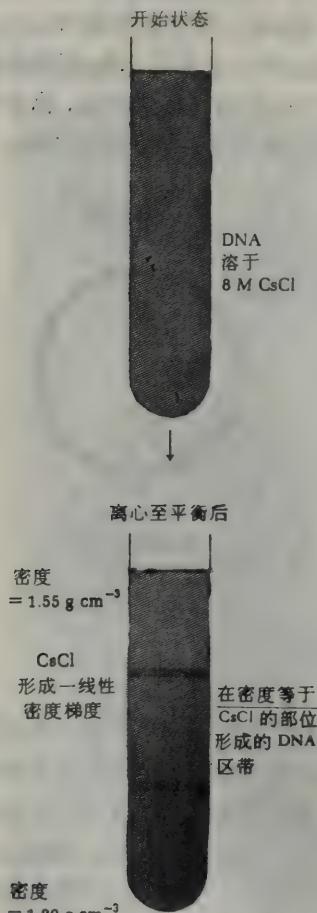


图 31-13 测定浮力密度

降速率与一已知大小和沉降系数的 DNA 样品的速率进行比较，可测得 DNA 的分子量。

现已广泛应用氯化铯梯度中进行平衡沉降的方法来测定 DNA 分子的浮力密度 (buoyant density)。当以一浓 CsCl 溶液 (8.0M) 在高重力场下离心至平衡，CsCl 沿管向下分布形成一线性梯度；在 1 厘米管中顶部溶液密度约 1.55 克/毫升，底部约 1.80 克/毫升。当管中形成这样一种梯度时，如果有 DNA 存在，则浓聚成一稳定的区带，它停留在管中的位置，恰好是它的浮力密度正等于该处 CsCl 溶液的密度(图 31-13)。DNA 的密度可以直接计算出来或与一已知的在同一梯度下离心的标准 DNA 样品的密度进行比较。单股 DNA 在这种 CsCl 梯度中比双股 DNA 的密度大些，后者一般又比蛋白质的密度大些。RNA 也能与 DNA 区别开来，因为 RNA 的密度比单股或双股 DNA 都要大。

最重要的是浮力密度的测定还可提供关于 DNA 样品中碱基组成的资料，因为 G-C 碱基对是由三个氢键连接的，比由只有二个氢键连接的 A-T 碱基对更为致密和具较高的密度。DNA 样品在 CsCl 梯度中的浮力密度是 G-C 与 A-T 碱基对比值的线性函数(图 31-14)。CsCl 梯度方法还能揭示出完整均匀的病毒的 DNAs 呈一很狭窄的区带，而高等动物细胞中的不规则的不均匀的 DNA 碎片则呈现为具较广密度范围的宽区带。

DNA 的变性

在进行下列处理时，DNA 双螺旋形式的溶液会受到许多物理性质的明显改变：(1) 极度的 pH 变化；(2) 加热；(3) 用醇、酮等降低水溶液的介电常数及(4) 以尿素、酰胺及相似溶质处理。

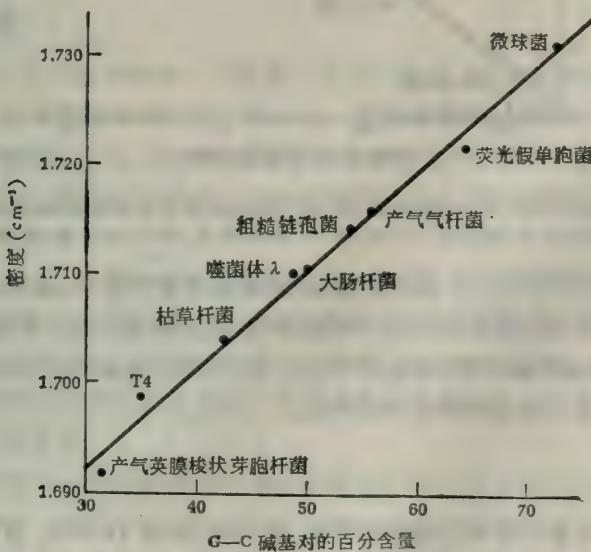


图 31-14 双股 DNA 的浮力密度与碱基组成间的关系。(数据引自 C. L. Schildkraut, J. Marmur and P. Doty)

DNA 溶液的粘度降低，260 毫微米的光吸收增加，旋光更加向负值变化以及浮力密度增加。DNA 的这种物理变化称为变性；注意 DNA 的变性剂与使球状蛋白质伸展而引起变性的变性剂相同。DNA 的变性时没有共价键的破坏，而只是 DNA 双螺旋结构的松

开和分离。有两组力担负维持 DNA 的双螺旋结构：(1) 碱基对之间的氢键及(2)相邻碱基间的堆集的相互作用。当其中一组或二组力被阻断的话，则天然的双螺旋结构跃迁到一种随机形成的圈环形式，这即称为单股或变性 DNA。

高色效应

用以检查 DNA 变性最简单的物理变化是在 260 毫微米处的光吸收增强，这称为高色效应 (hyperchromic effect)。在第十二章已指出嘌呤和嘧啶碱基以及其相应的核苷酸在 260 毫微米可吸收紫外光。但是天然双股 DNA 在 260 毫微米的光吸收远比从其组成的单核苷酸的光吸收总和所推断的要小很多。如果天然双股 DNA 加热使变性，则在 260 毫微米的光吸收则大大增加，根据 DNA 样品的不同，可增加达 40%。完全变性的 DNA 的总光吸收接近等于当量数目的相应游离单核苷酸的光吸收总和。天然 DNA 样品加热后在 260 毫微米的光吸收增加的百分率直接与其 A-T 碱基对的含量有关：A-T 碱基对比例愈高，光吸收增加也愈多。(图 31-15)

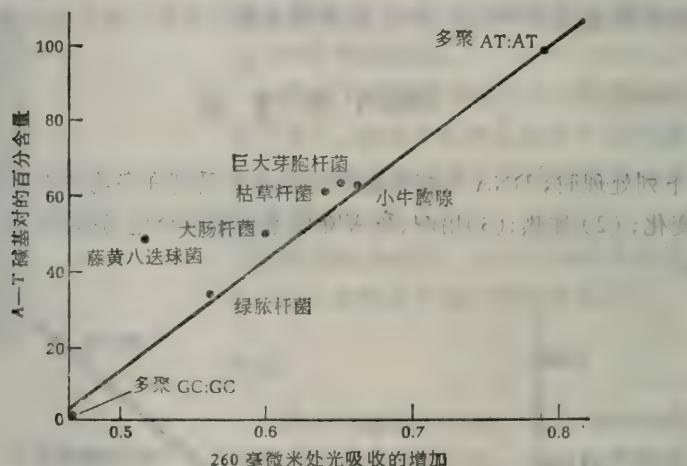
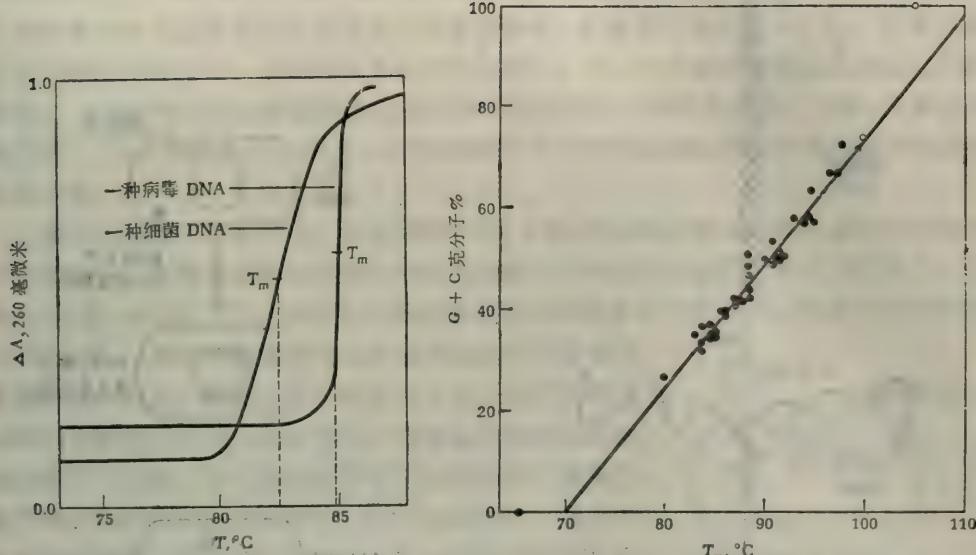


图 31-15 某些 DNA 样品加热后，在 260 毫微米的光吸收增加，高色效应的大小与 A-T 碱基对的克分子百分数相关。(引自 H. R. Mahler; B. Kline and B. D. Mehrotra)

双股 DNA 分子的光吸收小于其叠加值，这现象称为低色性 (hypochromism)，这是由于天然双螺旋结构中排列的碱基间的电子相互作用，因而降低了每一个残基能够吸收的光量的缘故。当双螺旋结构被打乱，碱基排列也打乱了，而且这种形式对光吸收妨碍较小，它几乎象是游离核苷酸一样吸收同样多的光量。

DNA 的熔点

天然 DNA 分子常常只要增加很小的温度，就会变性(图 31-16)；这种跃迁的陡峭度使人联想到简单有机化合物的熔点。事实上 DNA 的热变性常常叫它为融解。不同种类的细胞的 DNA 样品具有不同特征性的熔点，称为 T_m ，即融解曲线中点的温度(图 31-16)。 T_m 随 G-C 碱基对的含量呈线性形式增加，因 G-C 碱基对有三个氢键，比 A-T 碱基对更稳定。G-C 碱基对含量愈高，则结构愈稳定，裂解它所需要的热能就愈多。在固定的 pH 和离子强度的条件下，小心测定 DNA 样品的熔点，能对其碱基组成作出一显著好的



一种病毒 DNA 和一种细菌 DNA 的特征性熔解曲线。前者分子较小，表示较陡的熔解跃迁。两种 DNA 的样品的 G-C 含量不同。

从植物、动物及病毒来源的 40 种不同的 DNA 样品的 T_m 对其 G-C 含量作图。所有样品都是在相同条件下进行测定的。

图 31-16 DNA 的熔点 (T_m) 及其与 G-C 碱基对含量的关系。(引自: P. Doty)

估计。

DNA 变性的阶段

双螺旋 DNA 分子的变性有二个阶段。在第一阶段，分子中的双股结构部分解开，但至少还保留一小段双螺旋结构联在一起，这一小段双螺旋结构仍有一些互补碱基对连接。每一股已被解开的节段，则其构型呈不规则的变化的。在第二阶段 DNA 的两股彼此完全分开。如在这一阶段迅速冷却，每一游离股又和自身组成双股形成短的不完全的链内双螺旋节段。(图 31-17)

如果均一的 DNA 的解开过程没有超越第一阶段，它的变性是容易逆转的。只要有一双螺旋节段将两股链连在一起，并还有些碱基对仍有配对连接。那么当温度下降时，两股链上已解开的节段又会自动重新盘绕，再形成一完整的双螺旋。它们准确地变回到具有最小自由能的他们的天然构型中去。然而如果双股已经完全分离开来了，那么重新天然化的过程就要慢得多。

均一的双股 DNA 的融解表现有极陡的温度跃迁，因为发生的许多连续的相互作用的合作性质致使每一相互作用大大促进第二个相互作用发生的趋势。对于双股 DNA 的解开和重新盘绕的速度曾进行过许多研究，因为在完整细胞中当 DNA 复制时也发生这些过程。(第卅二章)

当仔细控制对均一 DNA 分子的变性条件，它们最不稳定的节段即富含 A-T 碱基对的部分，首先解开。用电子显微镜观察这种部分变性的 DNA，可见有富含 A-T 碱基对的节段。(图 31-18)

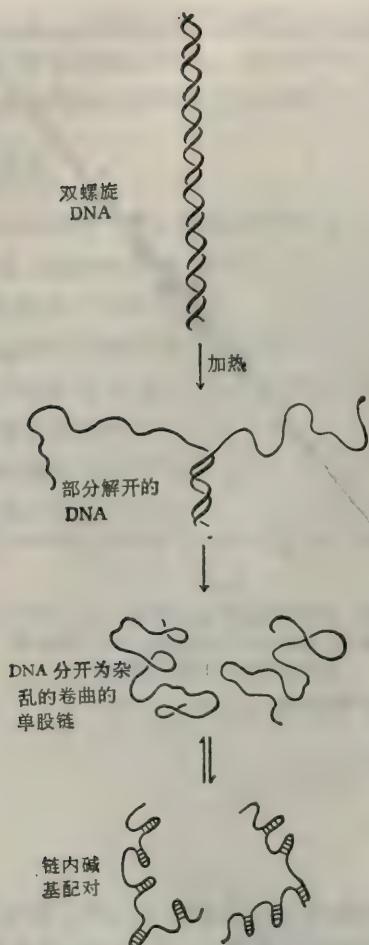


图 31-17 DNA 变性的阶段

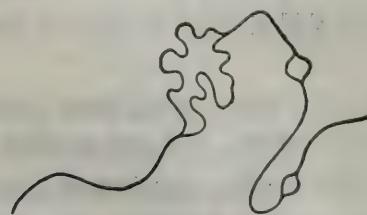


图 31-18 线形 DNA 分子中在富含 A-T 碱基的区域选择性地使其变性的示意图，富含 A-T 区比富含 G-C 区不稳定。图中“空泡”表示富含 A-T 区，并与遗传图有关。

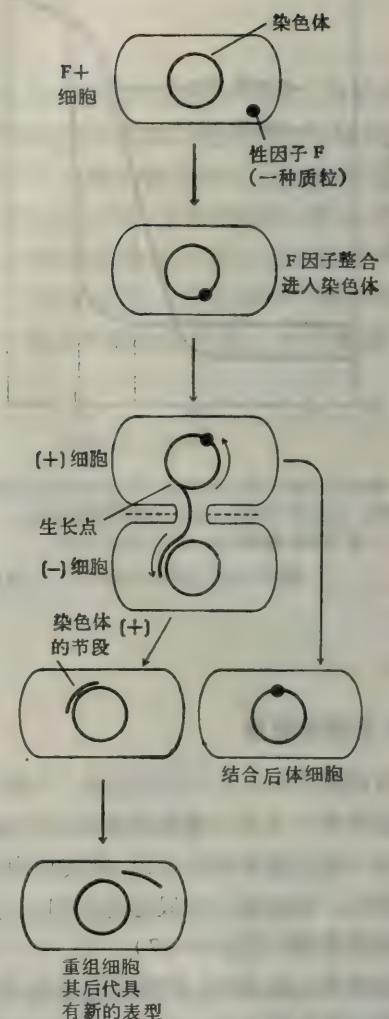


图 31-19 大肠杆菌中的结合过程示意图。从性因子 F 摆入染色体生成 a(+) 细胞开始，细胞接近，(+) 细胞染色体中一股单链通过接合桥进入(-)细胞。当桥中断时，进入(-)细胞的(+)DNA 部分就可掺入到(-)染色体中，并失去一个被核酸酶作用而降解了的相应节段。在结合不同时间间隔后，根据引进到(-)细胞内的新的表型，就有可能描绘染色体图。

染色体结构图的描绘

细菌染色体上不同基因的相对位置的遗传图之所以能描绘，是因为在特别的环境下，一类细胞中含有一个或多个基因的染色体的一个节段，可以脱下来并转移至另一类细胞

的染色体上，并与之共价结合。从受体细胞和其后代表型的变化可以识别这种重组基因。在真核有机体中这种基因的重组是一种普通事情，多常常于性结合中发生。但是在原核生物中这却比较少见。然而选择适当的实验条件，可以大大提高细菌基因重组过程的发生率。这样就得到描绘细菌染色体基因相对位置图的一种有力工具。因此，四类基因重组过程：(1)有性结合；(2)转化；(3)病毒转导及(4)病毒重组，可供描绘细菌和病毒染色体图之用。

第一个过程，有性结合，包括“雄性”或(+)细胞的部分或全部染色体转移至雌性或(-)细胞中，推测这是通过作为两个细胞间的一种中空的连接管的绒毛或毛缘之一进行转移的(图 31-19)。正在结合的大肠杆菌细胞在特定条件下完成(+)染色体的转移约需时 90 分钟。用搅切器搅动细胞悬液可以在任何时候中断细胞间的联合，因此也即中断结合过程。应用这种方法根据中断的时间可以回收带有不同数量的雄性染色体物质的(-)细胞。(-)细胞的无性后代也获得了雄染色体片段，这种片段决定表型特性的类型和数量，并是进入的时间的函数。这样就能推导出在插入的雄染色体中，决定这些特性的基因的相对位置。从这种有性结合实验推导出的最重要的结论之一是大肠杆菌的染色体必须包括一个没有末端的封闭的环(图 31-20)。因此细菌染色体的遗传图是环形的。

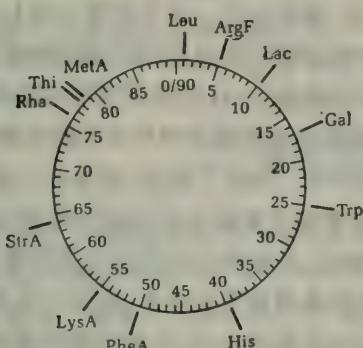


图 31-20 从有性结合实验推导出的大肠杆菌 K12 的圆形遗传图，刻度表示结合时雄染色体进入的时间。整个染色体进入需时 89 分钟。图中仅表示少数基因的位置。图例表示基因突变的效应。(引自 A. L. Taylor and C. D. Trotter)

图例

Leu = 生长需要亮氨酸	PheA = 生长需要苯丙氨酸
ArgF = 生长需要精氨酸	LysA = 生长需要赖氨酸
Lac = 不能利用乳糖	StrA = 能抗链霉素
Gal = 不能利用半乳糖	Rha = 不能利用鼠李糖
Trp = 生长需要色氨酸	Thi = 需要硫胺素
His = 生长需要组氨酸	MetA = 需要蛋氨酸

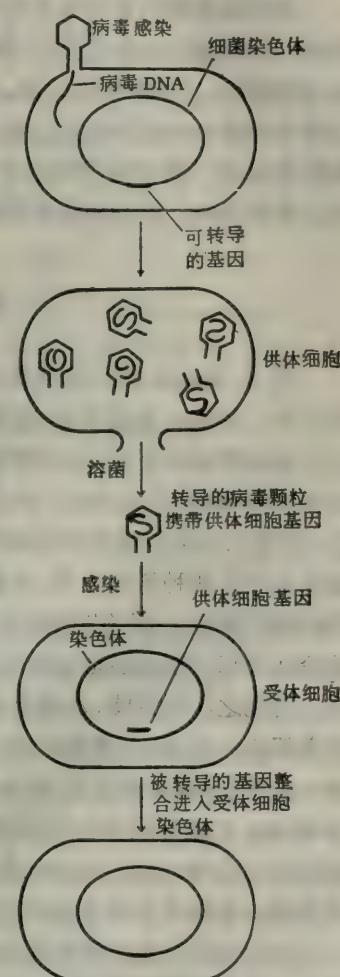


图 31-21 借助于通过载体噬菌体的转导作用，基因从供体细菌细胞转移到受体细菌细胞。

细菌转化过程可作为描绘细菌染色体基因图的另一种方法。正如我们曾讨论过，向受体细菌细胞加入从另一菌株所得的外源 DNA，可引起前者的遗传转化。这种效应是由于供体 DNA 的一个或多个基因被掺入到受体细胞的染色体中之故。通过测定供体细

胞的二种或多种表型同时出现在受体细胞的后代中的频率，有可能推导出供体细胞中二种相应基因的相对位置。在染色体中以高发生频率掺入受体细胞的基因对，比掺入较少见的基因对更靠近些。

转导现象对遗传图描绘更有用，在转导过程中一种被病毒感染的细菌细胞一小部分染色体掺入病毒后代 DNA 分子中。当后代病毒颗粒感染另一细胞时，来自原宿主细胞的基因可掺入新宿主细胞的染色体中。结果，转导的病毒颗粒将一种细菌细胞的一部分染色体带至另一种细菌细胞的染色体中去(图 31-21)。转导对描绘遗传图的细微结构上是非常重要的。因为转导的噬菌体通常只携带很小一部分细菌染色体，约为 1% 数量级。因此转导特别适合对染色体的极小节段进行描绘，而较不适于对粗结构的描绘。

描绘细微结构遗传图也可在病毒染色体上进行。使细菌病毒进行自发或诱发突变。当两种病毒颗粒的染色体(一种正常，另一种是突变型或者二种不同的突变型)进入同一宿主细胞时，它们断裂成片段，然后在病毒复制过程中又重新组合，形成杂种病毒染色体。这种杂种染色体然后指导含有来自两种亲代病毒基因的后代的形成，并可从它们的表型特征来识别。通过这种病毒重组实验，已经推导出大肠杆菌的 T₄ 及其他噬菌体的遗传图也是环形的。我们即将看到病毒重组试验也能得到关于基因大小的某些深入的结论。

基因和突变单位的大小

在 S. Benzer 进行的经典遗传研究中，曾获得有关基因和突变单位的大小的有价值的材料。Benzer 曾用病毒-重组方法研究了 T₄ 染色体的一个小区域 (rII)。有一类影响这区域的病毒突变型，而这类突变型能在一种细菌宿主的菌株(允许的)中迅速生长，但不能在其它菌株(不允许的)中生长。当不允许的细胞在 rII 区域用两种不同的突变型感染之，发现二种突变型之间的某些重组体重新获得在那种宿主中生长的野生型的能力。也就是说来自两种不同的 T₄ 突变型的缺陷基因中的“良好”部分，组合在一起形成了一个“良好的”基因。因为发现许多不同对的 T₄ 突变型可重组生成“良好的” rII 基因。Benzer 结论认为每一基因必须包含有许多可突变的部位，并能将这些部位以线形顺序描绘出来。这一发现之所以重要，是因为过去一直认为基因本身是突变单位，即每一基因只含有一个突变部位。从 T₄ 病毒颗粒的 DNA 分子的已知长度及由 rII 区域占据的遗传图上的已知的一小部分，则计算出 T₄ 染色体的 rIIA 基因含有约 2,500 个核苷酸对(图 31-22)。Benzer 发现 rIIA 区域有近 500 个不同的突变型，表明突变单位不大于约五个核苷酸。后来又通过其它的遗传试验，Benzer 及其他研究工作者结论认为突变可以只包括一个核苷酸的化学变化。这种突变称为点突变，它们的分子特性将在下面讨论。

由以后进行生化研究的结果证实了这些从遗传实验导出的结论，而且能更加确切的描述。最重要的是发现每一氨基酸是由一个专一的核苷三联体作密码而定的。因此决定蛋白质的一条多肽链的基因，无论那里都可有约 300 至 5,500 个或更多的核苷酸对，这相当于一条含有 100 至 1,800 个氨基酸残基的多肽链，也就是大多数蛋白质中的多肽的链长范围。因为一种已知蛋白质或酶可含有二条或多条多肽链，而每一条多肽链的密码是由一个不同的基因决定的。原来关于一个基因—一种酶学说应修正为一个基因—一条多肽链的概念。顺反子 (cistron) 一词现也用以来表示基因。

决定转移 RNA 分子的基因含有少于 100 个核苷酸单位。还有决定某些短多肽的氨基酸顺序的基因，也是属于比较小的基因，譬如只有 39 个残基的促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的基因。

Calif., 1965.)

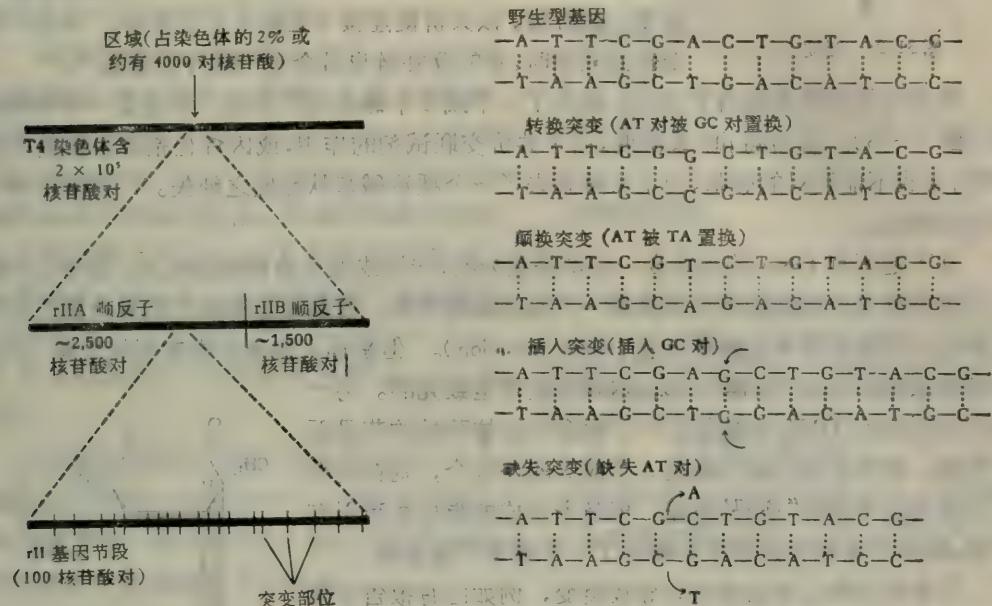


图 31-22 噬菌体 T₄ 的遗传图中的 rII 区域的细微结构。(引自 J. D. Watson)

突变的分子本质

能导致 DNA 中突变型基因产物的各种类型化学变化已被鉴定。根据诱变剂在 DNA 中产生的变化，可将单纯的点突变分为四大类（图 31-23）。在转换型突变型中一种嘌呤-嘧啶碱基对被另一碱基对置换，即 A-T 置换 G-C 或 G-C 置换 A-T。以致一条链上的一嘌呤被另一嘌呤置换，另一条链上的一嘧啶被另一嘧啶置换。转换突变是自发进行的，但也可被一些碱基类似物，特别是 5-溴尿嘧啶 (BU) 和 2-氨基嘌呤 (AP) 诱发。因为 5-溴尿嘧啶的结构很类似胸腺嘧啶，当 DNA 复制时（作为 5-溴尿苷酸）它迅速插入 DNA 中正常为胸腺嘧啶所占的位置上。然而易与腺嘌呤配对的酮式 5-溴尿嘧啶可互变异构形成烯醇式。这样以来它便变为更易与鸟嘌呤 (G) 配对。由于在一条链上的 T 被 BU 置换，导致在其互补链上 G 的掺入而不是 A 的掺入。因此当后一条链轮到复制时，在新的互补链上 G 现在就指定要 C。类似物 2-氨基嘌呤的作用相似，它可被读为 A 或 G。亚硝酸也能产生转换突变，它可使正常与 T 配对的腺嘌呤脱氨生成次黄嘌呤，而与 C 配对。

在颠换突变中一个嘌呤-嘧啶对被一个嘧啶-嘌呤对所置换。颠换在自发突变中是常见的，事实上血红蛋白的 α -和 β -链的突变（第五章）大约有一半属颠换突变。

点突变的第三类型包括插入一额外的碱基对。其结果是一种类型的移码突变（图 31-23）。这样命名是因为读取核苷酸三联体时，正常阅读的密码关系因突变而被打乱了原来

野生型基因

-A-T-T-C-G-A-C-T-G-T-A-C-G-
-T-A-A-G-C-T-G-A-C-A-T-G-C-

转换突变 (AT 对被 GC 对置换)

-A-T-T-C-G-G-C-T-G-T-A-C-G-
-T-A-A-G-C-C-G-A-C-A-T-G-C-

颠换突变 (AT 被 TA 置换)

-A-T-T-C-G-T-C-T-G-T-A-C-G-
-T-A-A-G-C-A-G-A-C-A-T-G-C-

a. 插入突变 (插入 GC 对)

-A-T-T-C-G-A-G-C-T-G-T-A-C-G-
-T-A-A-G-C-T-G-G-A-C-A-T-G-C-

缺失突变 (缺失 AT 对)

-A-T-T-C-G-C-T-G-T-A-C-G-
-T-A-A-G-C-G-A-C-A-T-G-C-

图 31-23 点突变的类型

的顺序。用吖啶衍生物处理细胞很容易诱导插入一额外碱基。吖啶是一平面杂环分子

(图 31-24)。许多证据表明：由于吖啶是一扁平的芳香结构，它以非共价键连接方式插入或嵌入 DNA 的两个连续的碱基之间，而使之隔开。当这一条链复制时一个额外的碱基，正对着嵌入的吖啶，以共价键连接方式插入互补链中。当后一条链轮到复制时，新的互补链也就含有一额外的碱基了。

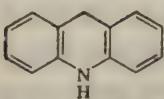


图 31-24 叻啶

突变的第四类型是由于 DNA 缺失了一个或多个碱基而产生的，它也是一种移码突变(图 31-23)。因为高 pH 或温度，由于共价交联试剂的作用，或因烷化剂或脱氨基剂的作用，生成不能配对的碱基，由于水解脱去了一个嘌呤碱基从而使之缺失。二氨基吖啶也可诱导缺失。

并不是所有 DNA 的点突变一定都是致死的，转换或颠换是相对良性的，因为它们使其以密码指导合成的肽链中仅仅有一个氨基酸被置换。很经常这种缺陷的蛋白质仍是有功能的。这种突变称为静置突变 (silent mutation)。但是插入或缺失突变型使所有 DNA 在突变点旁都引起“误读”；那么这种突变常是致死的。另一类突变型是因 DNA 中缺失了一个包含许多核苷酸的节段而产生的。如果缺失的核苷酸是 3 个或 3 的倍数个，则在突变位点处旁边不会有“移码”误差，但是所合成的蛋白质可以有缺陷，因为可能在肽链顺序中缺失了一个或多个氨基酸。

许多其它的化学试剂可以导致突变，例如已有报告麦角酰二胺 (LSD)，甚至咖啡因都能诱发突变。 γ 射线和 X 射线都是特别强的诱变剂。紫外光也可引起突变，过度暴露于日光下是发生皮肤癌的一种原因。紫外线照射引起的最常见的损伤形式是生成胸腺嘧啶二聚体，它是由二个相邻的胸腺嘧啶残基通过一个环丁烷环共价连结起来的(图 31-25)。胸腺嘧啶二聚体能中断 DNA 的复制。它们也可以从 DNA 上进行酶促切除，遗留的缺口则可修复。

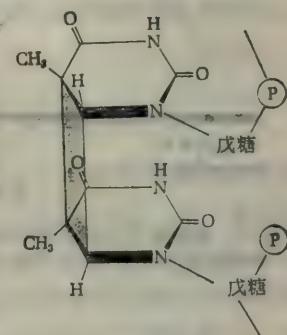


图 31-25 胸腺嘧啶二聚体的结构。紫外线照射使在相邻的胸腺嘧啶残基间生成一个环丁烷环。阴影部分表示环丁烷环的平面。

DNA 的修饰作用和限制作用

细菌能把侵入的或外来的非同种的 DNA 摧毁，因此能阻止它的复制、转录或掺入宿主细胞的基因组内。这所以可能是因为有称为修饰作用和限制作用的二个酶促过程巧妙的结合的缘故。修饰作用是细胞对它自己的 DNA 进行具有种属特异性的酶促改变，因此能和其它种属的 DNA 区别。限制作用是在特异性酶的作用下降解外来侵入的 DNA，但不破坏宿主细胞的 DNA，这单纯是因为修饰作用的酶对宿主细胞 DNA 所产生的专一的共价改变，而不允许限制作用的酶对其作用。

宿主细胞 DNA 的保护性修饰作用是由修饰性甲基化酶催化的，此酶能使腺嘌呤残基甲基化。一旦宿主细胞 DNA 经这种方式修饰后，它就不能被那个细胞的限制性酶所降解。这种限制性甲基化酶从 S-腺苷酰蛋氨酸上转移甲基至双股 DNA 中腺嘌呤残基对上，每一股链上有一个腺嘌呤残基被甲基化，这两个腺嘌呤残基是相邻或靠近的碱

基对。两股链上的介于甲基化腺嘌呤之间及在甲基化腺嘌呤附近的碱基顺序在中点两侧是对称的(图 31-26)。某些病毒的 DNA 为了保护它免受宿主细胞限制性酶的作用而被修饰,是通过从 UDP-葡萄糖转移一个葡糖残基至羟甲基胞嘧啶残基上。

限制性酶是一类核酸内切酶,它能识别外来 DNA 碱基的专一顺序,并使之裂解,而在宿主细胞中 DNA 则通过甲基化而被修饰。宿主细胞 DNA 上的甲基阻止了这种限制性核酸内切酶的攻击。限制性核酸内切酶能在双股链上产生一种不可修复的断裂,结果外来 DNA 进一步被细胞内的其他核酸酶降解。另一类限制性核酸内切酶能与 DNA 上专一的点结合,但却在其他随意点上断裂。

限制性核酸内切酶对于天然 DNA 分子的选择性的专一断裂已成为一种极重要的工具,使可能对染色体进行有控制的分段断裂和鉴定其专一基因的部位。例如对猿猴病毒 40(一种致癌病毒)DNA 上的“癌基因”的定位描图就正取得相当大的进展。

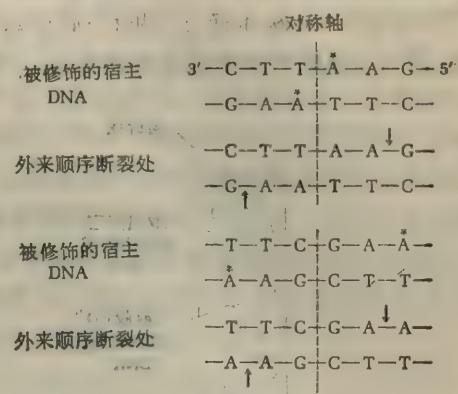


图 31-26 修饰性甲基化酶和限制性核酸内切酶作用于 DNA 的专一部位。图中列举两种种类的示例,表示限制性位点的对称轴。* 表示宿主 DNA 中甲基化的碱基;↑ 表示外来 DNA, 被宿主限制性核酸内切酶作用的断裂点。但并不是所有限制性核酸内切酶都制造错列缺口。

杂交技术: 不同物种 DNA 的顺序同源性

虽然已经测定了许多不同的细菌和高等动物的 DNA 碱基组成,但对天然完整的 DNA 分子核苷酸的精确顺序了解很少。然而应用杂交试验可以确定两种已知的 DNA 样品是否有互补的碱基顺序的基本单位或节段,以及其程度怎样。这种杂交试验是根据两股 DNA 链在其互补区域配对和重新盘绕生成双螺旋的趋势。两股已知的 DNA 链结合生成双链的趋势愈大,它们顺序的互补性程度也愈大。进行这一试验时,需将两个 DNA 样品混合并加热至超过两者的“熔点”,然后徐徐冷却。如果它们有互补的碱基顺序,则将结合生成杂交双链。如果预先将一个 DNA 样品用 ^{32}P 标记,就很容易测定这种杂交形成的程度。用密度梯度离心法可将混合样品中各种单链和双链的种类进行分离,并可测定出新生成的杂交双链部分的放射性大小。这种杂交试验的一个重要的发现,就是确立了两种已知物种 DNA 的杂交趋势是它们在分类学上的关系中所处位置的密切程度的一个函数。因此虽然各种细菌 DNA 在碱基组成上差异很大(表 31-3),但它们可以含有许多在碱基顺序上近似互补的区带,可能由于在不同种的细菌中决定一些同源性酶的基因密码是近似的。另一方面,细菌的 DNA 并不能与高等动物 DNA 或甚至酵母细胞 DNA 很容易就进行杂交。对各种细菌病毒 DNA 形成杂种的趋势也曾进行过研究;一种病毒的各种突变型的 DNA 彼此杂交,比不同类型的病毒的 DNA 彼此进行杂交要容易些。

从关系密切的高等动物不同物种中分离的 DNA 之间进行的杂交,可以用一种更灵敏的技术来检测。即把参考物种的变性单链 DNA,使掺入到一种惰性支持物中去(譬如

分散很细的琼脂凝胶颗粒),然后填充装入层析柱中。再将从另一物种的并已用同位素标记的变性 DNA 标本通过层析柱;同位素保留在柱上的程度则是两种 DNA 杂交趋势的指标,同时也是顺序同源性程度的指标。(图 31-27)

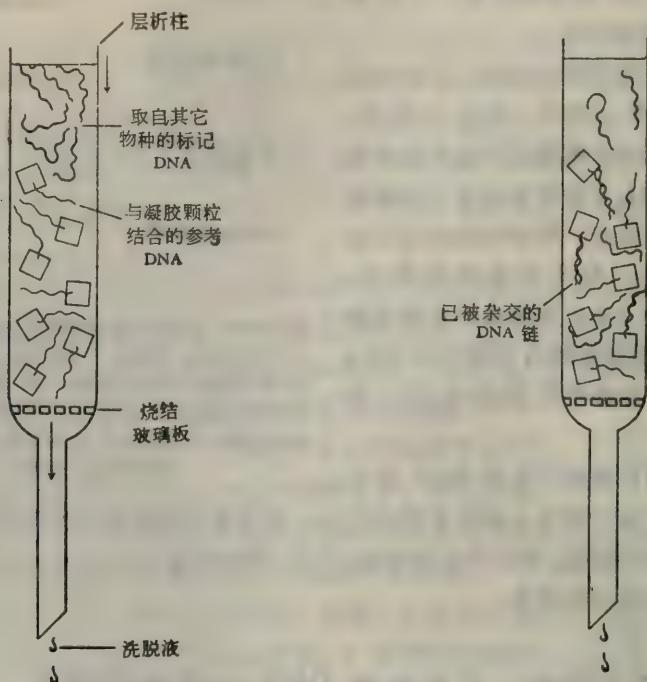


图 31-27 杂交试验: 用单链(变性的)参考 DNA 浸渗入琼脂凝胶中, 然后研碎成细颗粒, 填充入层析柱。待检的具放射活性的 DNA 流经层析柱。如果其核苷酸顺序与参考 DNA 互补, 则生成杂交双链, 并固着于琼脂凝胶上。被层析柱保留的标记 DNA 的量, 可作为测定互补程度的指标。

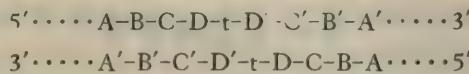
单链 DNA 也可与从同物种取得的 RNA 进行杂交, 再通过互补碱基配对 (RNA 的尿嘧啶残基与 DNA 的腺嘌呤残基配对)。这一发现充分提示, 正如已更直接证实的那样, RNA 是在一块 DNA 模板上合成的。也可用 DNA 与 RNA 之间的杂交来研究确定细菌染色体上什么部分是 RNA 的密码。例如在某些细胞中所有的核蛋白体 RNA 代表了它总的 RNA 的一半以上,但却以不到 2% 的细菌染色体作为密码。

根据在羟磷灰石 (hydroxyapatite) 柱上进行的层析分离, 已发展为更加灵敏得多的杂交试验。这类试验可用以来确定正常和癌细胞 DNA 或 RNA 是否含有在某种已知致癌的病毒中存在的那种基因。

真核细胞 DNA 的回文子

真核细胞的 DNA 不同于原核细胞的 DNA 不仅在于分子大小和染色体的超微结构机构方面不同,而且在碱基顺序的某些特征也有不同。这种特征之一就是在真核细胞 DNA 中存在许多,也许是成千的回文子 (palindrome)。一个回文子代表一个字或一个句子,顺读或反读其拼法都是相同的,例如 “Able was I ere I saw Elba”。这一名词是用以表示真

核细胞 DNA 中的专一区域，其中有逆向重复，可用符号表示如下：



这里 t 意味着“回转处”(turnaround)。这种逆向重复很长，包括成百成千的碱基对。C. A. Thomas Jr. 及其同事们曾对此作过较详细的分析。用强碱变性的真核细胞 DNA 的片段，在复性作用 (renaturation) 生成双股链后，通过沉降和电子显微镜分析可以检测出这些重复。发现复性的 DNA 有广泛的链内碱基配对，形成很长的“发夹”，但具一短的回转处。这类“发夹”是由逆向重复的碱基顺序配对形成的。这种很长的逆向重复是偶然发生的可能性看来很小。Thomas 及其同事们曾设想它们的功能是从主要的双链染色体形成长的双链分枝，也许是为了改善对复制酶的易接近性。

真核生物 DNA 的重复顺序

当细菌 DNA 被剪切力断裂为小片段时，正如用密度梯度离心法所测定那样，所有小片段几乎都含有相同的碱基成分并具有相同的密度。然而当高等生物机体 DNA 断裂并进行密度梯度离心时，可见一个大的主峰和一个或多个小峰。它们具有明显不同的密度，因而其碱基组成也有明显的差异。存在于这些小峰中的 DNA 称为“随体 DNA”。分析一些物种的随体 DNA，发现它们具有简单重复的碱基顺序。蟹的随体 DNA 的重复顺序为-A-T-A-T-A-T-A-T-，大袋鼠的重复顺序为-G-G-A-C-A-C-A-G-C-G-，而果蝇的则为-A-C-A-A-T-T-。这种顺序发生在大约 100 个残基的基本单位中，而且在每一细胞可重复 10^7 次。随体 DNA 构成整个染色体 DNA 的大部分。大袋鼠的随体 DNA 组成基因组的约 11%，而蟹的则接近 25%。病毒及细菌的染色体中不发生这种重复顺序。因此认为重复顺序是与真核细胞染色体中 DNA 的机构方式有关。这种短的高度重复的顺序大多发生在染色体的着丝粒区域。说明它们可能是无信息的“间隔器”，或者使信息 DNA 的环维系在一起时起着一种结构作用。

除随体 DNA 外，真核细胞 DNA 还具有另一类大很多的重复顺序，它们是 R. J. Britten 及其同事们测定热变性 DNA 复性（或碱基配对）的速率而发现的。用 cot 值来表示复性的速率，cot 值的定义是指核苷酸残基的克分子浓度与复性的时间(秒)的乘积。因为随体 DNA 有比较多但又较短的几乎相同的顺序，所以它的 cot 值很低。而均一的没有重复的 DNA 则有很高的 cot 值。奇怪的是，真核细胞的 DNA 约有一半具有介于中间的 cot 值。解释起来就意味着可能有些地方有约从 10^2 到超过 10^4 那么多的含有几千个残基的大型重复顺序。

某些物种的核蛋白体 RNA 的基因有许多重复的复制单位。例如在滑爪蟾 (*Xenopus laevis*) 中，它每一个细胞中的这类基因含有大于 1,000 个复制单位，彼此被富于 G-C 对的“间隔器”所分开，除了某些物种的核蛋白体 RNA 基因外，还不知道有其他作为蛋白质或 RNA 密码的结构基因的会含有大量复制单位的。所以设想非常相似的 DNA 节段的重复复制单位的中间类型具有调节功能，它们可能组成全部细胞基因组的一半以上。这一假说与从突变速率所作的估计是符合的。说明人类细胞全部 DNA 中只有一小部分，也许只 10%，是由结构基因组成的，相当于约 10 万个基因之中每一个基因的一个复制单位。

专一基因的分离

用特殊的实验方法，在少数情况下已经能从 DNA 样品中分离出单个基因或基因组。J. Beckwith 及其同事们已从大肠杆菌中分离出与 β -半乳糖苷的运转和代谢有关的 DNA 的调节区段及一组的三个基因；而 D. D. Brown 分离了决定核糖核蛋白体 RNA 密码的基因。这种分离的 DNA 片段能在体外工作，它能决定特征性基因产物的密码。可用间接方法确定已分离的基因的核苷酸顺序，并可用以指导建立测定 DNA 的核苷酸顺序的直接方法。

多聚脱氧核糖核苷酸及基因的化学合成

直接分析均一 DNA 的碱基顺序还存在某些难以克服的困难，因为即令是比较小的 DNA，其残基数目也比已知顺序的 RNA 和蛋白质多很多。而且 DNAs 通常不含可以用作标志的一些次要碱基。同时，脱氧核糖核酸酶也不能使 DNA 断裂成易于处理的小片段。尽管有这些困难，现在已经可以测定出含有 100 个或更多的残基的 DNA 片段的碱基顺序。

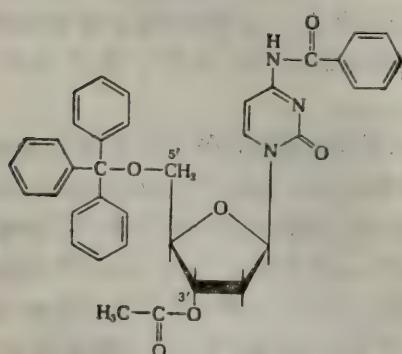


图 31-28 保护或阻断核苷酸的敏感基因。

在此例中胞苷酸的氨基被苯甲酰基保护，3'-羟基被乙酰基保护以及 5'-羟基被三苯甲基保护。

因为基因的碱基与它的密码所决定的那些 RNA 的碱基是彼此互补的，所以可能由此推导出某种基因的碱基顺序，特别是那些决定已知顺序的 RNA 的基因。酵母丙氨酸 tRNA 的碱

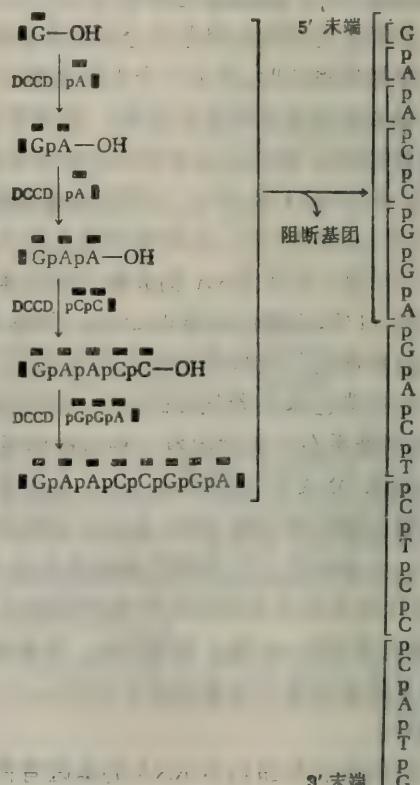


图 31-29 化学合成一含有 20 个残基的寡聚核苷酸，即决定酵母丙氨酸 tRNA 的密码的基因中一条链上的一片段。黑色粗横线表示保护碱基的阻断基团；黑色竖线表示保护 5' 或 3' 羟基的基团。通过缩合剂二环己烷基碳化二亚胺 (DCCD) 的作用，单核苷酸或寡聚核苷酸残基被加上去。图右侧表示化学合成 20 单位链的工作流程；方括号表示加入的寡聚核苷酸基块的大小。合成毕，移除所有的保护基团。

基顺序是已知的，因此决定它的基因的碱基顺序也就容易推导出来。酵母丙氨酸 tRNA 有 77 个核糖核苷酸残基；其“裸”基因也因此有相同数目的脱氧核糖核苷酸残基。tRNA 中的次要碱基的形成是通过在 tRNA 主链已经形成后，发生的酶促反应，从相应的亲代碱基生成的，也就是通过转录后的反应生成的。

在 H. G. Khorana 及其同事们的一项卓越的工作中，用化学和酶促的实验方法相结合，合成了酵母丙氨酸的 tRNA 的基因，这是第一个主要用化学方法制成的基因。他们使用的方法的基础是，对核苷和核苷酸中凡对于形成磷酸二酯键所需要的缩合剂敏感的反应基团使用了保护或阻断剂。这种敏感的基团包括脱氧核糖部分上的 3' 和 5' 羟基，碱基上的氨基以及磷酸根本身。这一问题和多肽的化学合成所面临着的问题相似。图 31-28 表示 Khorana 研究组所发展起来的某些保护基团。在恰当的基团被阻断后，通过将一个已被保护的核苷酸的游离 3'-羟基与第二个核苷酸的游离 5'-磷酸根缩合，形成核苷酸间的磷酸二酯键。在早期工作中所使用的缩合剂是选用碳化二亚胺衍生物 (carbodiimide derivatives)，如二环己烷基碳化二亚胺 (dicyclohexylcarbodiimide)。后者也用于肽键的合成，但最近则宁用芳香磺酰氯化物。通常是分别首先合成一些短的有 5 至 10 个残基的寡聚核苷酸，然后再把它们装配成较长的核苷酸链。用此法曾经合成了在已知顺序中直至有 20 个残基的多聚脱氧核糖核苷酸，图 31-29 显示了一个例子。这条链相当于决定酵母丙氨酸 tRNA 的基因中的残基 21 至 40。通过 DNA 连接酶反应又以正确顺序连接了 15 个这种化学合成的双股多聚脱氧核糖核苷酸链，Khorana 及其同事们用此法已成功地进行了酵母丙氨酸 tRNA 基因的两股的全合成。而且它们还合成了大肠杆菌酪氨酸 tRNA 前身的基因，它包括两个额外的 DNA 片段，每一片段位于酪氨酸 tRNA 基因的各一端。当 tRNA 前身为最后的 tRNA 时，以酶促反应移除这些末端 DNA 片段。合成的 tRNA 前身的 DNA 总共含有 126 个残基。

化学合成的寡聚脱氧核糖核苷酸已用于作为酶促制备已知顺序的 mRNA 的模板。并可用这种 mRNA 的顺序推导出遗传密码词语的核苷酸顺序。

摘要

最初是从下述实验证明了 DNA 携有遗传讯息，即加入从一细菌菌株分离的 DNA 可以使另一菌株按遗传方式转化为加入的 DNA 所来自的菌株。每个细胞中的 DNA 的含量，随在进化程度上细胞所处的位置不同而增加。高等生物机体的某一物种的全部体细胞(双倍体)有相同的 DNA 含量，它不受饮食或周围环境的影响。DNA 样品中碱基组成在不同种属间存在着特征的差异。双链 DNA 中腺嘌呤残基数目等于胸腺嘧啶残基的数目；同样，鸟嘌呤残基数目等于胞嘧啶残基的数目。

从 DNA 纤维的 X 射线分析和 DNA 中的碱基当量，Watson 和 Crick 推测天然 DNA 是由两条反向平行链组成的双螺旋排列，在螺旋内通过氢键连接使互补碱基 A-T 和 G-C 配成对，而共价连接的主链则在外侧。碱基对垂直于长轴，相距 0.34 毫微米，紧密堆集在一起。双螺旋的直径约 2.0 毫微米。这种结构提供了对两股链能够准确复制的解释。

在最小的 DNA 病毒中，天然双股 DNA 分子的分子量约为 100 万；在细菌中约为 2 兆；而在真核细胞染色体中则至少有 80 兆。在多数 DNA 病毒中的 DNA 是线形的但可

以圆形排列，而在细菌染色体则是一种无末端的封闭环形 DNA。真核细胞(体细胞)的 DNA 在染色质中是与组蛋白或其它蛋白质结合的。很明显，每一染色体中有一很大的 DNA 分子，经多次环绕，并在着丝粒处结合在一起。

在氯化铯梯度溶液中，将 DNA 进行平衡离心是一有价值的分析手段，因为 DNA 的浮力密度与其 G-C 碱基对的含量成比例。加热可使 DNA 双螺旋解开(变性)和在 260 毫微米处的光吸收增加(高色效应)。高色效应随 A-T 含量增加而增加，而“熔点”温度 T_m 则随 G-C 含量增加而增加。

可以从有性结合、转化或病毒转导时，基因转移的实验推导出细菌 DNA 的功能上的分工和遗传图。用这种方法还证明了大肠杆菌的遗传图是圆形的。用大肠杆菌病毒的突变型的基因重组实验和生化研究，发现基因(顺反子)在任何地方都含有 75 至 5,500 或更多的碱基对。最小的突变单位是一个单个核苷酸对。一种嘌呤取代另一嘌呤，一种嘧啶取代另一嘧啶或一嘌呤取代一嘧啶或反之，都可引起点突变。当一个或多个碱基对缺失或额外插入碱基也可发生突变。

细菌细胞通过限制核酸内切酶的作用可破坏另一物种的外来 DNA。而其本身的 DNA 则因某种碱基的甲基化而被保护。真核细胞 DNA 含有许多回文子，即逆向重复顺序。

从对真核细胞机体的 DNA 用杂交实验及复性速率的动力学测定，证明含有多至 100 万很短的重复顺序(随体 DNA)的复制单位，100 至 10,000 个中等长度的重复复制单位，可能其功能在调节作用，而且可能含有蛋白质的大多数结构基因的单一复制单位。

参 考 文 献

书籍

- Barrell, B. G., and B. F. C. Clark: *Handbook of Nucleic Acid Sequences*, Joynson-Bruvvers, Oxford, 1974.
- Cairns, J., G. S. Stent, and J. D. Watson (eds.): *Phage and the Origins of Molecular Biology*, Cold Spring Laboratory of Quantitative Biology, 1966. A collection of interesting articles written on the occasion of the sixtieth birthday of Max Debrück, a pioneer in research on bacteriophages.
- Davidson, J. N.: *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, 7th ed., Academic, New York, 1972. A popular, up-to-date survey.
- Davidson, J. N., and W. E. Cohn (eds.): *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, vols. 1-, Academic, New York, 1963-present. Annual review volumes.
- Drake, J.: *Molecular Basis of Mutation*, Holden-Day, San Francisco, 1970.
- DuPraw, E. J.: *DNA and Chromosomes*, Holt, New York, 1970. Superb electron micrographs of eukaryotic chromosomes.
- Grossman, L., and K. Moldave (eds.): *Methods in Enzymology*, vols. 12, 20, and 21 Academic, New York. 1967—1971. Valuable compendium of experimental methods.
- Lewin, B. M.: *The Molecular Basis of Gene Expression*, Wiley-Interscience, New York, 1970. Excellent, well-documented, and well organized account of molecular aspects of replication, transcription, and translation.
- Lewin, B. M.: *Gene Expression*, vol. 2, *Eucaryotic Chromosomes*, Wiley, New York, 1974. Comprehensive review of present status, with extensive bibliography.
- The Organization of Genetic Material in Eukaryotes, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, vol. 38, 1973.
- Stent, G. S.: *Molecular Genetics*, Freeman, San Francisco, 1971. Excellent textbook.
- Watson, J. D.: *The Double Helix*, Atheneum, New York, 1968. A personal narrative of the origins of the Watson-Crick hypothesis.
- Watson, J. D.: *Molecular Biology of the Gene*, 3d ed., Benjamin, Menlo Park, Calif, 1975. Well-illustrated elementary account of the principles of molecular genetics.

论文

- Arber, W.: "DNA Modification and Restriction," *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 14: 1—38 (1974).
- Avery, O. T., C. M. MacLeod, and M. CeCarty: "Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types," *J. Exp. Med.*, 79: 137—158 (1944).
- Britten, R. J., and D. E. Kohne: "Repeated Sequences in DNA," *Science*, 161: 529—540 (1968).
- Brown, D. D.: "The Isolation of Genes," *Sci. Am.*, 229: 20—29 (1973).
- Chargaff, E.: "Preface to a Grammar of Biology: A Hundred Years of Nucleic Acid Research," *Science*, 172: 637—642 (1971). Personal philosophical commentary, in a paper given on the anniversary of the discovery of DNA by Friedrich Miescher; very interesting.
- Galibert, F., J. Sedat, and E. Ziff: "Direct Determination of DNA Nucleotide Sequences: Structure of a Fragment of ϕ X174 DNA," *J. Mol. Biol.*, 87: 377—407 (1974).
- Hess, E. L.: "Origins of Molecular Biology," *Science*, 168: 664—669 (1970).
- Khorana, H. G., and colleagues: "Total Synthesis of the Gene for Alanine Transfer RNA from Yeast," *Nature*, 277: 27—34 (1970).
- Khorana, H. G., and colleagues: "Total Synthesis of the Structural Gene for an Alanine Transfer Ribonucleic Acid from Yeast," *J. Mol. Biol.*, 72: 209—522 (1972). A long series of papers describing the first synthesis of a gene.
- Loewen, P. C., T. Sekiya, and H. G. Khorana: "The Nucleotide Sequence Adjoining the CCA End of an *Escherichia coli* Tyrosine Transfer Ribonucleic Acid Gene," *J. Biol. Chem.*, 249: 217—226 (1974).
- Mirsky, A. E.: "The Discovery of DNA," *Sci. Am.*, 218: 78—88 (1968). Early intimations in the nineteenth century that DNA is the genetic material.
- Stent, G. S.: "That Was the Molecular Biology That Was," *Science*, 160: 390—393 (1968).
- Wilson, D. A., and C. A. Thomas, Jr.: "Palindromes in Chromosomes," *J. Mol. Biol.*, 84: 115—144 (1974).
- Worceel, A., and E. Burgi: "On the Structure of the Folded Chromosome of *Escherichia coli*," *J. Mol. Biol.*, 71: 127—147 (1972).
- Wyatt, H. V.: "When Does Information Become Knowledge?" *Nature*, 235: 85—88 (1972). An examination of the history of molecular biology from Avery (1944) to the Watson-Crick hypothesis (1953).

习题

- 从噬菌体 λ , ϕ X174 和 T_2 的 DNA 的外周长度的数据, 试计算每一微米双螺旋 DNA 的平均重量(以道尔顿为单位)。
- 按照根据 Watson-Crick 模型推测的大小, 试计算每一微米 DNA 双螺旋核苷酸对的平均数。
- 噬菌体 M13 DNA 的碱基组成如下: A, 23%; T, 36%; G, 21%; C, 20%, 试问当在 83—85°C 加热 DNA 时, 其在 260 毫微米处的吸光度有何变化。
- 噬菌体 T_2 有—约 95 毫微米长的头部, 试计算其 DNA 的长度与病毒头部长度的比。
- 试计算下列 RNA 和蛋白质的密码基因的平均长度(毫微米)和平均重量(道尔顿):
(a)一种 tRNA (含 90 个单核苷酸残基);(b)核糖核酸酶(含 104 个氨基酸残基)及(c)肌球蛋白(含 1800 个氨基酸残基)。
- 几种双股 DNA 样品含有: (a) 10% A-T 碱基对;(b)50% A-T 碱基对及(c)90% A-T 碱基对。试从本章数据推算这些 DNA 样品的: (1)浮力密度(克/立方厘米);(2)熔点(T_m)及(3)高色效应(%)。
- 假设 DNA 中有 1/3 是多余的, 不能用来作蛋白质合成的密码, 并设每一基因含有

900 对碱基,试计算单个人类细胞的 DNA 含有多少基因?

8.(a) 参考表 31-1 的数据,并假设人的新生儿有 2×10^{12} 个细胞,试计算人的新生儿中全部 DNA 的总重量(克)和总长度(哩)。

(b) 如果 G+C 碱基含量为 40%,试问此种 DNA 所占体积有多少立方厘米。

9. 从一动物病毒分离得到的 DNA,含有通常的碱基当量,并且不受核酸外切酶的作用,试问:

(a) 它的三维结构怎样?

(b) 它用限制性酶 EcoRI 裂解可生成单一的分子量为 3.4×10^6 的 DNA,如用从副流感嗜血杆菌分离出来的限制性酶 [HpaI] 以进行全消化,则生成三个碎片片段,并可用凝胶电泳分离,其分子量为 1.4×10^6 ; 0.7×10^6 及 1.3×10^6 。如同时用 EcoRI 和 HpaI 两种酶联合裂解可生成四个碎片片段,其中最短的一个分子量为 0.6×10^6 ; 最长的为 1.3×10^6 ,并将这些碎片按大小以字母编码,以 A 表示最长者。试问两种酶联合消化生成的四个碎片的分子量各为多少?

(c) 用两种酶进行部分消化后,分离出相当分子量为 1.3×10^6 的碎片的电泳带,再用 HpaI 完全消化此碎片。这种处理生成三条带,其中一条带电泳迁移速率相当于分子量为 1.3×10^6 的碎片,还有二条相当于二种较短碎片的区带。试设计此病毒 DNA 的碎片 A 至 D 的可能的遗传图,并标明其断裂部位。

(d) 从一突变病毒株中分离的 DNA,经此二种酶完全消化仅生成三个碎片片段,其大小为 2.0×10^6 , 0.6×10^6 及 0.7×10^6 。什么是导致此突变新型的侵蚀斑的最简单的解释?

[朱定尔译 任邦哲校]

第三十二章 DNA 的复制和转录

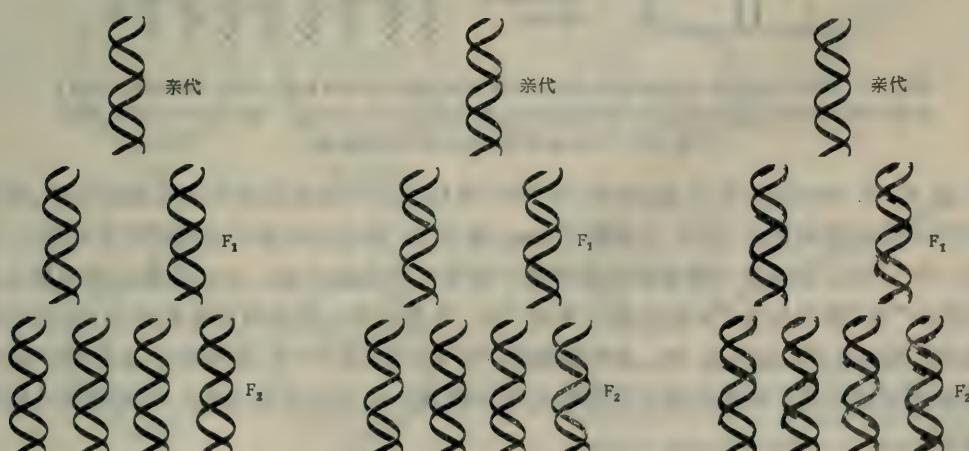
我们现已考查过关于 DNA 是遗传物质以及它的互补双螺旋结构为它的模板功能提供了分子基础的证据，并且即将对 DNA 复制成相同的子代分子和转录成互补的 RNA 分子的机制进行审查。

参与 DNA 复制和转录的酶类，和其它蛋白质确实是已知生物催化剂当中最不平凡的。它们作用的全面的分子描述必需不仅能说明核苷酸之间磷酸二酯键的生成，还必须能说明以一种精确的互补核苷酸顺序的形式将遗传信息从模板股上准确地传递到新生成的股上来。此外，它还必须能说明亲代双股 DNA 解对时提出的几何的，机械的和动力学的复杂问题。而这种解对又是使双股链内用碱基顺序编码的信息，暴露给复制和转录酶类所必需的。这些酶也必须在染色体专一点上应答某种分子信号而开始和终止它们的作用。因此与大多数其它酶类相反，与 DNA 复制和转录有关的聚合酶类和其他蛋白质，有它们极为复杂的功用。

虽然我们在分析涉及复制和转录的分子机制问题上已有很巨大的进展，但仍将会看到有许多重要问题尚待解决。

DNA 的半保守复制：Meselson-Stahl 实验

从遗传学观点看 Watson-Crick 的假说，其最突出的特点即提出双螺旋 DNA 的两股是互补的，而且每股的复制形成新的互补股链，导致两个子代双股 DNA 分子的生成。每



DNA 的保守复制过程，亲代两股 DNA 中每一股都复制了，以获得未变的亲代DNA 和一个新合成的 DNA。_oF₂ 代由亲代DNA 和三个新 DNA 所组成。

DNA 的半保守复制过程。每个 F₁ 双股含有一个亲代股。F₂ 代由两个杂交 DNA 和两个全新 DNA 组成。

分散复制过程，亲代链在间隔处破裂，亲代节与新节结合生成子代股。

图 32-1 DNA 复制的可能机制

一分子中含有从亲代 DNA 中来的一股。称为半保守复制的这一过程，并非从亲代双股 DNA 的两个互补股能得到与亲代 DNA 相同的子代 DNA 双股的唯一可能机制。还有保守的和分散的两种其它复制方案必须考虑；图 32-1 中显示出这三种不同方式。

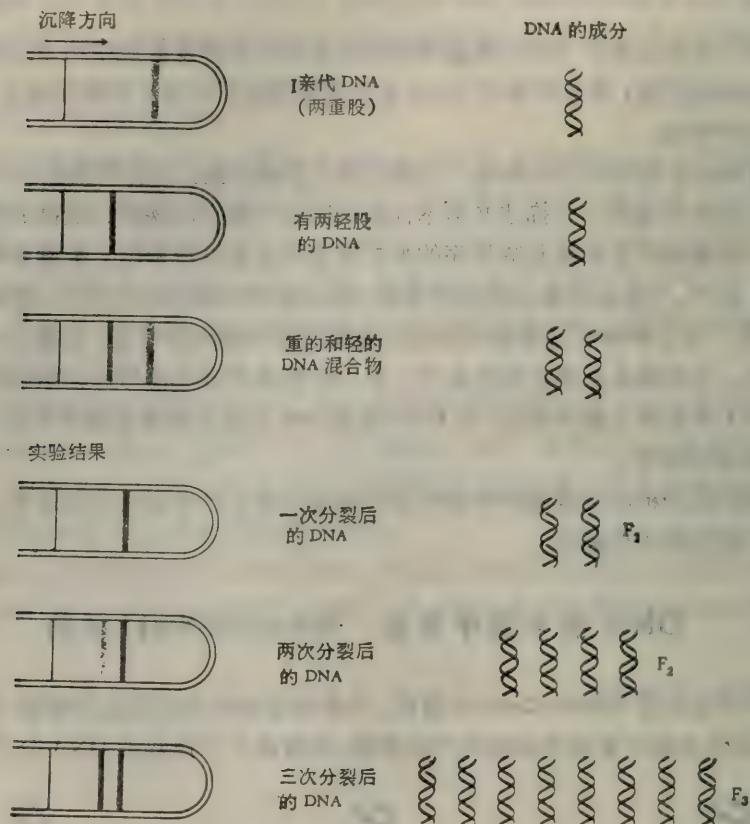


图 32-2 Meselson-Stahl 实验的结果(左边)在密度梯度离心达到平衡后，DNA 带的位置(右边)对照 DNA 的形式以及细胞在含¹⁵N 培养基中分裂三次后 DNA 的形式。“重”指¹⁵N-DNA；“轻”指¹⁴N-DNA。此结果完全支持半保守复制。

由 M. S. Meselson 和 F. W. Stahl 于 1957 年作出的巧妙地设计的实验确切证明，在完整的活大肠杆菌细胞内 DNA 是依照 Watson 和 Crick 提出的半保守方式进行复制的。他们在一种以氯化铵为唯一氮来源的培养基中培育几代大肠杆菌，而这种氯化铵的氮几乎是纯粹的“重”氮同位素¹⁵N 而不是正常的¹⁴N。因此这些细胞的所有含氮组分，包括它们的 DNA 都含有¹⁵N 而不是¹⁴N。这些细胞的¹⁵N-DNA (重 DNA) 的密度比正常¹⁴N-DNA 的密度明显地大些；在氯化铯密度梯度中用平衡离心法可以分离 DNA 的重的形式和轻的形式。

为在 DNA 复制的机制上作出决定性实验，含有“重”¹⁵N 的大肠杆菌细胞继续放在一个“轻”基质里生长，基质中含有正常¹⁴N-NH₄Cl 作为唯一的氮源。让细胞生长几代并在多次间隔中采取样品。从这些样品中提取 DNA，并在 CsCl 密度梯度中离心以测出其浮力密度。在¹⁴N 基质中培养刚好一代的时间以后，得到加倍的细胞数目，分离出来的 DNA 在密度梯度中只显出一条带，此带是在正常的或轻的¹⁴N-DNA 与完全在¹⁵N 上成长的细

胞的¹⁵N-DNA两者之间的密度的中间(图32-2)。假如子代细胞的DNA双股含有一个¹⁵N股和一个新合成的¹⁴N股的话则这个结果正是所希望的。在¹⁴N-NH₄Cl上过了两代以后,分离出的DNA显出两个带;一个的密度与正常轻DNA的相等,而另一个则与一代以后所观察的杂交DNA的密度相等。这些结果用图解表示在图32-2中,正如从Watson和Crick提出的半保守复制假说所希望得到的那样,但它们与另外的保守性或分散性复制假说不相符合(图32-1)。Meselson-Stahl实验特别有说服力,因为它是在完整的分裂细胞上做的,没有抑制剂或其它有害物的干扰。

在由J. H. Taylor与其同工作者设计的在组织培养中生长的豆芽根细胞上所作的类似实验中已证明真核细胞有机体在细胞分裂过程中也出现染色体DNA的半保守复制。

染色体复制的起始点和方向

关于染色体复制方向最有意义的早期实验中有J. Cairns的一些实验,他用放射自

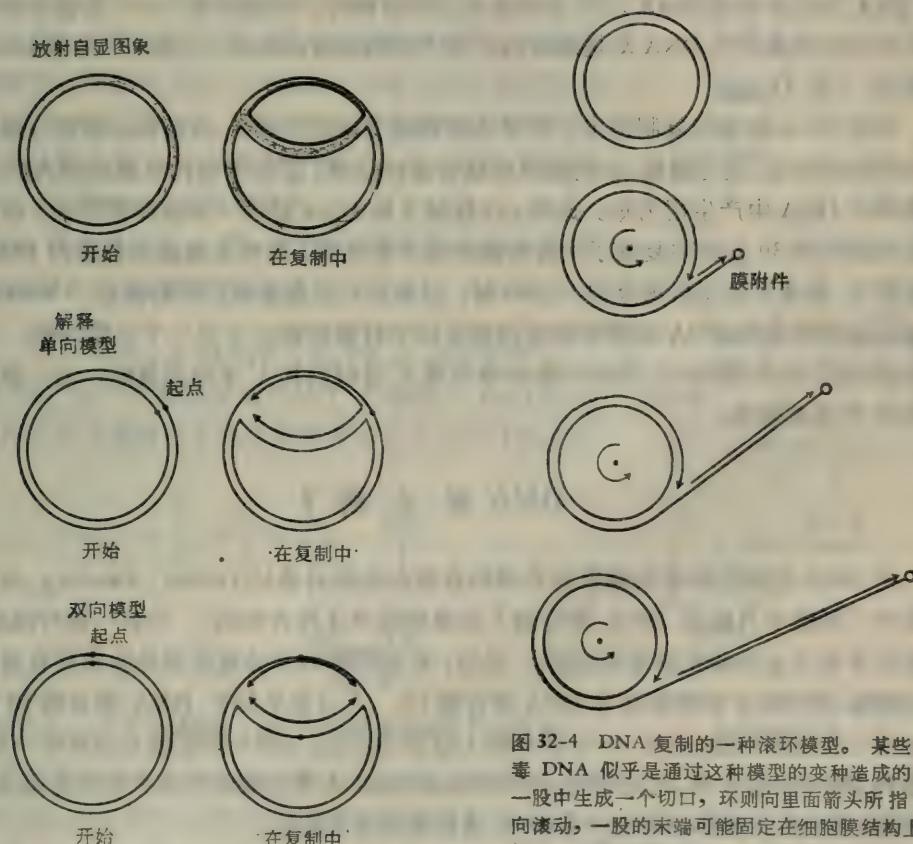


图32-3 大肠杆菌染色体的双向复制。上面显示出放射自显图象;下面是两种可能的解释。已证明双向模型是正确的。

图32-4 DNA复制的一种滚环模型。某些病毒DNA似乎是通过这种模型的变种造成的。在一股中生成一个切口,环则向里面箭头所指方向滚动,一股的末端可能固定在细胞膜结构上,拉这一末端可使环滚动。子代DNA股就这样按表明的方向形成且从环状股剥下来;然后它们在直线部分中复制。新股后来断裂成直线型病毒双股。

显微为工具在复制过程的不同阶段,检查了正在生长的大肠杆菌细胞染色体的放射性标记。大肠杆菌细胞在含有富于氚的胸腺嘧啶的基质中生长着。胸腺嘧啶首先由细胞转化

成放射性的脱氧核糖胸苷 5'-三磷酸，它是新合成 DNA 中放射性胸腺嘧啶残基的前身物。间歇地采收细胞并小心地提取 DNA。将 DNA 分子平铺在格板上再覆盖着细晶粒照相底片。放射活性引起灵敏乳胶中氯化银还原产生轨迹，它们由金属银颗粒构成，直接位于放射性 DNA 分子之下，这些轨迹是在显微镜下拍摄的。大肠杆菌染色体的这种放射自显图表明它是一个没有末端的密闭圈，和它环状的遗传图相符合。此外，某些分离的染色体显示出一种额外的放射性圈（图 32-3）。从这些影像中可作出最简单的可能解说，即新股的生长起源于一点而且是单方向的，围绕整个环进行直到生长点回转到原始起点为止。

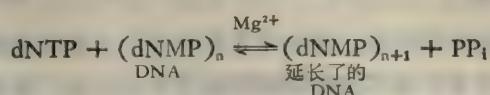
然而，在大肠杆菌上做的更完善的遗传和生化实验已经揭示出另一种解说更为恰当，即从单一起点开始的复制是双向的而不是单方向的（图 32-3）。在大肠杆菌遗传图上（图 31-20），复制大约在 74 分钟开始且朝两个方向进行。亲代 DNA 的两股如是同时复制直到两生长点相遇；就在这点上两个子代 DNA 分子就分离了。此外，真核染色体也是双向复制的，虽然我们将会知道真核生物的复制过程远比细菌的复杂。另一方面，线粒体的环状 DNA 和许多病毒如 ϕ X 174，似乎是单方向复制的。虽然病毒 DNA 的复制形式通常是环状的而病毒后代 DNA 却是线状的。为了说明这滚动的环，已提出了病毒 DNA 的复制模型。（图 32-4）

环状 DNA 的双向复制提出了许多力学和动力学的问题。两条链必需部分地解开以便允许复制发生，因为碱基，它们的顺序载着遗传信息，皆位于亲代双螺旋的内部。这种解链将在 DNA 中产生扭力矩。此外，在复制叉处 DNA 解链一定也非常地快，因为在一次分裂的时间 30 分钟内复制了大肠杆菌的整个染色体。约有双螺旋染色体的 400,000 转必须解开，其速率至少是每分钟 13,000 转，相当于一个高速离心机的转速。Watson-Crick 假说中建议的亲代 DNA 的两股的反向或反向平行极性提出了另一个主要问题。当复制叉沿着双股 DNA 移动时，其中一股必须从其 5' 进行到其 3' 末端而复制，另一股则从其 3' 向其 5' 末端复制。

DNA 聚合酶 I

对 DNA 复制的酶促机制首先开展的直接生化研究是从 1956 A. Kornberg 与其同工作者对一种酶今日称为 DNA 聚合酶 I 的重要研究工作开始的。在有一段时间里 DNA 复制似乎是由这种酶正常地作出的。然而，较近时期内又分离出另外两种具有类似催化性质的酶，即 DNA 聚合酶 II 和 DNA 聚合酶 III。今日看来似乎 DNA 聚合酶 III 是在复制过程中占主要的酶，虽然 DNA 聚合酶 I 也参与活动。DNA 聚合酶 I 还有另一功用；它在修补 DNA 时起作用。无论如何，我们现在有关 DNA 聚合酶的大部分知识是从 Kornberg 对 DNA 聚合酶 I 的详细研究中获得的，我们将首先讨论它。

DNA 聚合酶 I，从大肠杆菌分离出来，催化向 DNA 股末端加添脱氧核糖核苷酸残基，从 dATP, dGTP, dCTP, 和 dTTP 混合物开始。增加单独一个残基的总反应如下：



这一反应需要 Mg^{2+} 。在没有已形成的 DNA 时反应不会发生，我们将会知道它的功能远比这个反应所示的复杂多了。酶是通过对核苷酸前身物之一的 α -磷酸根中 ^{32}P 的掺入到延伸的 DNA 股的核苷酸之间 $3',5'$ -磷酸二酯键中去的测量而得到检验的。由于 DNA 在酸中不溶解，它可以从标志了的前身物中分离。此酶专一性地需要脱氧核糖核苷的 $5'$ -三磷酸化合物作为前身物； $5'$ -二磷酸和 $5'$ -一磷酸化合物皆不起作用。在有 Mg^{2+} 存在时核糖核苷的 $5'$ -三磷酸化合物也不起作用。而且为了反应能以显著的速度进行，DNA 中正常存在的所有四种脱氧核糖核苷的 $5'$ -三磷酸都必须存在。

DNA 聚合酶 I 催化向 DNA 链的游离 $3'$ -羟末端添加单核苷酸单位的反应，因此 DNA 合成的方向是 $5' \rightarrow 3'$ 。反应通过亲核置换而发生，在置换中 DNA 链的生长着的末端上末端单核苷酸残基的 $3'$ 羟基攻击进来的核苷 $5'$ -三磷酸的亲电子 α -磷原子引起离去的基团焦磷酸的置换，以及磷酸二酯键的生成（图 32-6）。形成新磷酸二酯键所需的能量是由 dNTP 的焦磷酸裂解提供的，它的发生伴有大的负标准自由能变化。然而，在正常细胞内条件下，DNA 聚合酶反应被拉到更趋向完成，因为放出的焦磷酸还可由无机焦磷酸酶水解成正磷酸。在有极大过量焦磷酸存在时可使 DNA 聚合酶反应逆转，引起 DNA 的焦磷酸解作用，伴随着脱氧核糖核苷 $5'$ -三磷酸混合物的生成。然而，在细胞内条件下，向前的反应占绝对优势。

DNA 聚合酶也催化 ^{32}P -标记的焦磷酸的平衡交换进入 dNTPs 的 β -和 γ -磷酸根，这反应可写成



其中 dNPPP 是一种脱氧核糖核苷 $5'$ -三磷酸。DNA 的焦磷酸解作用和焦磷酸交换两者都需要有已生成的 DNA 的存在。

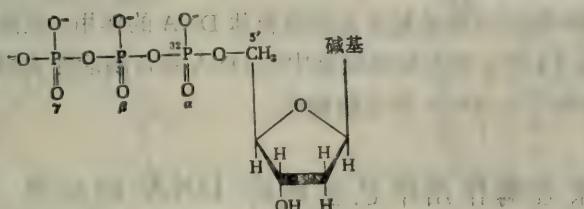


图 32-5 一个在 α -磷酸根上标记了的脱氧核糖核苷 $5'$ -三磷酸

大肠杆菌的 DNA 聚合酶 I 的分子量为 109,000。它具有一个约 1,000 氨基酸残基的单一多肽链。此酶具有一巯基，但并非活性所必需；它还有一个单一的链内二硫基。纯酶含有一锌原子在活性点上；它是活性所必需的。酶分子似乎是粗略的球形，且直径约 6.5 毫微米，与双股 DNA 比较后者的直径约 2.0 毫微米。纯净 DNA 聚合酶 I 在 $37^\circ C$ 时每一分子酶每一分分钟能加上约 1,000 核苷酸残基。

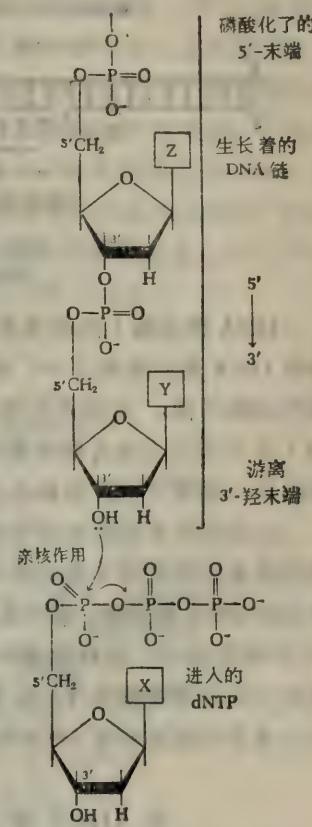


图 32-6 由 DNA 聚合酶
延长链的机制

DNA 聚合酶 I 的核酸外切酶活性, 一个多功能酶

DNA 聚合酶 I 也能催化两种其它反应, 初以为这是由于混杂有其它酶, 但后来已证明这是 DNA 聚合酶分子所固有的而且在它的生物活性中有重要性。其中之一即 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性, 亦即从 DNA 链 3' 末端水解单核苷酸残基(不是焦磷酸解作用)。另一功能为 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性, 即从 DNA 链 5' 末端水解单核苷酸残基。这两种核酸外切酶活性(图 32-7)在 DNA 聚合酶 I 功能中我们以后将会知道能起重要作用。

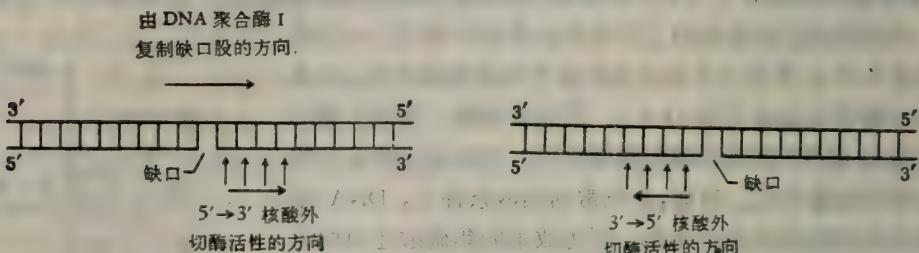


图 32-7 DNA 聚合酶 I 的 $5' \rightarrow 3'$ 和 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性的作用。连续地依所指方向每次除去一个残基。(直立箭头)

DNA 聚合酶 I 的单条多肽链能被某些蛋白酶分裂成两段。大的一段(76,000 道尔顿)含有 DNA 聚合酶和 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性；小的一段(36,000 道尔顿)只含有 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性。这两段的混合物在催化活性上与完整酶相似，而且必须断定 DNA 聚合酶 I 分子实际上含有两种截然不同的酶，一种是 DNA 聚合酶具有 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性而另一种是 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶，两者通过肽键连接起来。

已经在许多别的细菌中发现 DNA 聚合酶活性。通过 F. J. Bollum, J. N. Davidson 和许多其它研究者实验室的工作也在动物与植物细胞里发现其活性。真核细胞含有多种形式的 DNA 聚合酶，分子量不同，它们分布在细胞的不同部位——细胞核中，在细胞质中，和线粒体中。在线粒体中酶很可能是起着复制线粒体 DNA 的作用。在复制某些病毒例如大肠杆菌噬菌体 T2 和 T4 的过程中细菌细胞中的 DNA 聚合酶活性大增。病毒 DNA 为合成那些复制病毒 DNA 的专一 DNA 聚合酶编码。

在 DNA 聚合酶作用中已生成的 DNA 的功用

DNA 聚合酶最惊人和典型的性质即它要求有一些先存在的 DNA 的出现。若没有它，则纯净的酶将完全不制造多聚物，除非是在极特殊的情况下。

关于先存在的 DNA 的作用至少有两种不同的可能解释。它可以作为提供一个末端或生长点的引物而起作用。聚合酶可将更多的核苷酸残基往点上加，正如在糖原合酶活动中需要先存在的糖原链末端作为引物以接受葡萄糖残基那同样的方式。或者先存在的 DNA 可作为模板，酶可以在上面制造与先存 DNA 在碱基成分和顺序方面互补的 DNA 平行股。当然，需要先存的 DNA 可以既起模板作用又起引物作用。

Kornberg 与其同工作者研究了从大肠杆菌高度提纯的 DNA 聚合酶 I 作用所必需的

先存在的 DNA 的结构特点。人们将预料一个天然完整的双螺旋 DNA 作为复制的模板应有活力,值得注意的是它并不支持 DNA 合成。融化的或变性的 DNA,特别是两股大部分已分离的那些 DNA 是活跃的模板。此外,从多种不同来源(动物、植物、细菌和病毒)来的变性 DNA 支持大肠杆菌 DNA 聚合酶活性。还有单股有缺口(其定义是有一个游离 3'-羟基和一个游离 5'-磷酸根位于邻近残基的一种断裂处)的双股 DNA 与一股中含有一空白的双股 DNA 也有活性。单股 DNA 因为它能形成两端不均等的发夹(通过链内双股生成作用)故能支持 DNA 聚合酶活动。(图 32-8)

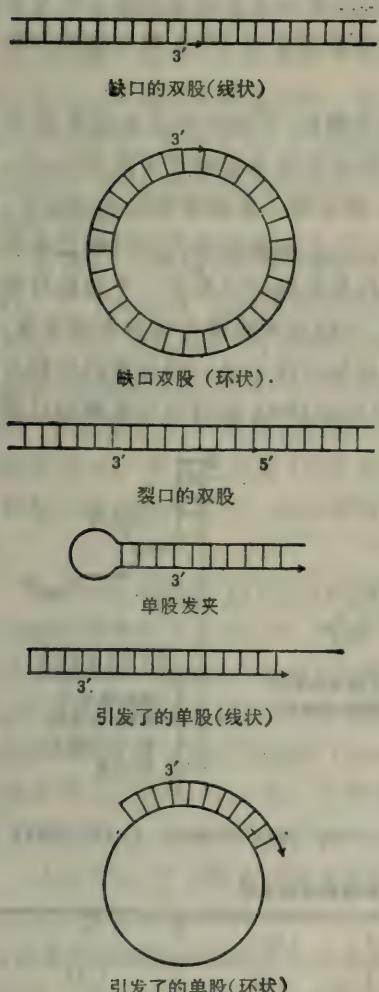


图 32-8 DNA 聚合酶 I 的模板-引物。聚合酶作用的方向用箭头表明。完整的双股不论是线状还是环状均无活性。

从这些实验已作出结论即先存在的 DNA 在 DNA 聚合酶 I 的作用中有双重功能: 需要它作为模板以及作为引物。此酶需要一个 DNA 股有游离的 3'-羟基存在,新的核苷酸残基可加到此残基上去以使链沿 5'→3' 的方向延伸。这就称为引物股,而末端 3'-核苷酸则称为引发末端。引物股不必很长,但必需与一个作为模板的长 DNA 股作碱基配对。现在称这样一种结构为模板-引物。在 DNA 聚合酶 I 的活性中心已经鉴定出五个不同的结合座位(loci)。(图 32-9)



图 32-9 DNA 聚合酶的活性中心内特异的结合点。
[引自 A. Kornberg, *Science*, 163: 1410 (1969)]

1. 一个模板的结合座位
2. 一个引物股的结合座位,引物股必需与模板股反向平行而且碱基配对
3. 一个引物的 3'-羟基末端座位(这个座位也能与具有 5'-磷酸根和一个游离 3'-羟基的单核苷酸相结合)
4. 一个进入的脱氧核糖核苷 5'-三磷酸的座位,此座位与四种三磷酸前身物的任一种

结合且必需 Mg^{2+}

5. 一个 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性座位，位于生长链的过道中。（图 32-9）

DNA 聚合酶 I 所作复制的精确性

现在可以想像出第二个重大疑问。DNA 聚合酶能否精确复制其模板股，以至于在新的 DNA 股中制出一个完美的互补碱基顺序呢？这个问题可以很理想地通过对模板 DNA 和新股的碱基顺序作出测定和比较来解答。然而，在那个时候这是不可能的而且即令在今天仍将是最艰难的任务。因而必须运用不那么直接的实验方法对 DNA 聚合酶的产物与其模板 DNA 作出比较。

在某些情况下 DNA 聚合酶能制造出数量上若干倍于模板-引物的产品加到体系中去。当产品的电子显微镜图表明它们含有许多分枝而这些分枝并不存在于天然 DNA 时，这种能力的分子基础就变得明朗了。这种分枝是 DNA 聚合酶 I 复制模板能力的结果，复制从引物股中单股缺口处开始，因此缺口后边的段节当它们被新股取代的时候就被剥离。然后 DNA 聚合酶分子又转过头来向着被剥离的股并且复制它以形成一个双股分枝（图 32-10）。这种双股分枝可以迁移到另一缺口；此外，一股或两股都可以再形成发夹，后者又可以作为新模板-引物而起作用，如此等等。虽然这种分枝不是一种正常的生物活性（这样产生的 DNA 称为“假冒”DNA），但所生成的大量新 DNA 使得有可能检查从模

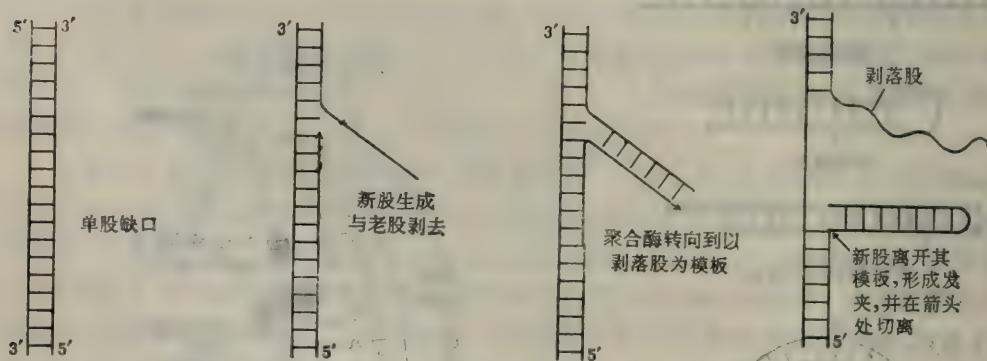


图 32-10 由 DNA 聚合酶 I 分枝并生成新的单股发夹。（引自 A. Kornberg, DNA Synthesis, P. 111, 1974）

表 32-1 大肠杆菌 DNA 聚合酶模板与产物的碱基组成成分

DNA	A	T	G	C
草分支杆菌 产物	0.65	0.66	1.35	1.34
大肠杆菌 产物	1.00	0.97	1.34	1.37
小牛胸腺 产物	1.04	1.00	0.97	0.98
T2 噬菌体 产物	1.14	1.05	0.90	0.85
AT 辅多聚物 产物	1.12	1.06	0.85	0.85
	1.31	1.32	0.67	0.70
	1.33	1.29	0.66	0.70
	2.00	2.00	0.00	0.00
	1.99	1.93	<0.05	<0.05

板-引物 DNA 新产生的 DNA 的碱基成分和复制的精确性。碱基成分的分析表明新生成的 DNA 在实验误差之内与模板-引物的相同(表 32-1), 如果变性双股 DNA 的两股都复制了则将正是所预期的。如果只有一个 DNA 股复制了, 则新的 DNA 股显现出与模板股相互补的碱基成分。

由 Kornberg 与其同工作者创建的称为最近邻碱基频率分析是对 DNA 聚合酶复制模板的精确性的更严峻的考验。此法能测出已知 DNA 链中任何两个碱基作为近邻或最近邻出现的频率。图 32-11 表明 DNA 的四种碱基能够以 16 种不同的最近邻对子出现。可以预料每一物种的有机体的 DNA 将有一套具有特色的和有特征性的最近邻碱基频率。图 32-12 显示出最近邻碱基分析的原理。正如所见, 此法能测得由 DNA 聚合酶的作用引进到 DNA 样品中去的任何已知碱基附近的四种碱基出现的频率。

在 DNA 聚合酶 I 对不同模板 DNA 作出反应所合成的 DNA 上 Kornberg 及其同工作者作过这种分析。表 32-2 中列出一例, 它是由 DNA 聚合酶利用草分支杆菌 DNA 作为模板-引物所合成的 DNA 的最近邻碱基频率。在新的 DNA 中发现所有 16 种可能的最近邻对子, 但它们的频率却差异很大。用其它天然 DNA 作模板所做的类似实验表明每种生物有机体都有一套具有特征性的最近邻碱基频率。

Kornberg 与其同工作者然后对 DNA 产物的两代的最近邻碱基频率作了比较, 第一代的 DNA 是由 DNA 聚合酶对从天然来源, 例如小牛胸腺中分离的 DNA 作出反应时所合成的 DNA, 而第二代的 DNA 则是由 DNA 聚合酶对从小牛胸腺 DNA 模板酶促合成的 DNA 作出反应时所合成的。其结果显示于表 32-3。第一代和第二代 DNA 的最近邻碱基频率在实验误差范围内基本上是相同的。从其它天然 DNA 作为模板开始也获得类似的数据。

从由 DNA 聚合酶在这种两代的实验中所制造的 DNA 的最近邻碱基频率分析中可作出两种重要结论。第一结论是 DNA 聚合酶能以高度的精确性复制模板 DNA 股。然而, 因为测定碱基的实验误差至少是 2% 而且可能更高些, 故最近邻类型的分析有明显的局限性。第二结论则是新合成的 DNA 链与相对应的模板 DNA 链的方向相反, 故模板链与新链具有相反的或反向平行的极性。图 32-13 中的数据清楚地证明了这一点, 图中显示出三个专一残基对的观察所得的最近邻频率, 并对下述两方面的值作了比较(1)假定新股与模板的极性相反(2)两股的极性相同。

虽然碱基成分与最近邻频率测定都表明 DNA 聚合酶以颇高的精确性进行复制, 还有第三种而且是对复制的精确性更严峻的考验, 即此酶能否从适宜的天然模板制造出具有生物活性的 DNA 来。但我们首先应该考虑与 DNA 聚合酶 I 联合作用的另一种重要酶, 即 DNA 连接酶。

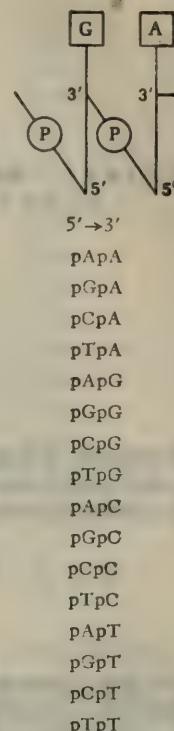
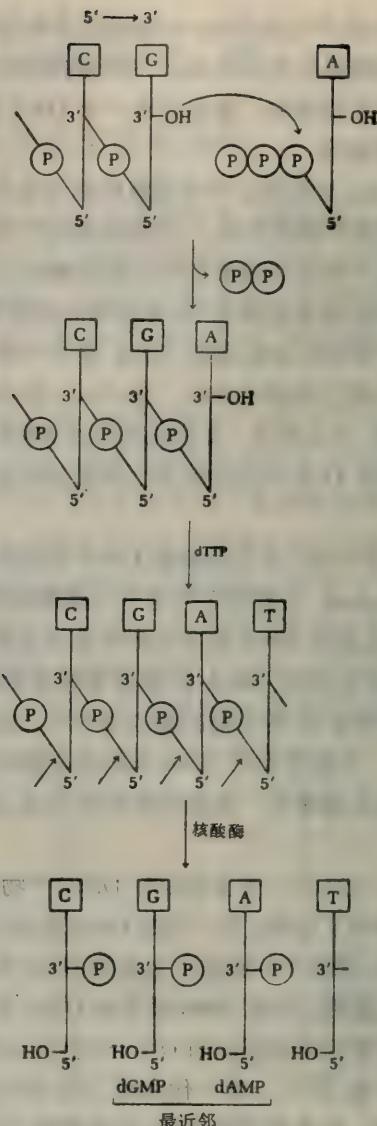


图 32-11 一股 DNA 中 16 个可能最近邻的核苷酸对。符号是二核苷酸的。例如 pGpA 符号代表下列二核苷酸。

dATP 通过 DNA 聚合酶的作用，在 α -位上用 ^{32}P 标记，与 DNA 3' 末端作用，因而插进一个与模板股上的 T 残基互补的 A 残基。



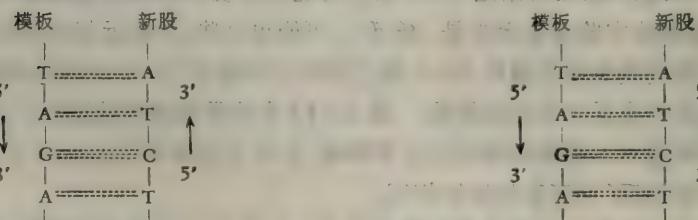
聚合酶的进一步作用例如与模板链中互补的 A 残基相对应又加进一个 dTMP 残基，接着加上与模板互补的残基直到全链完成为止。

然后用专一的核酸酶在箭头所指处切断二磷酸键生成 3'-单核苷酸。原来引进 dAMP 残基 5' 位上的 ^{32}P 现在以 3'-磷酸根出现在前面的 dGMP 残基上，因而标记了 dAMP 的最近邻。

图 32-12 最近邻碱基频率分析的原理，表明最近邻单核苷酸是如何标记的。

假设极性相反
(反向平行链)

假设极性相似
(同向平行链)



观察数据

模板	新股
T-A(0.012)	T-A(0.012)
A-G(0.045)	C-T(0.045)
G-A(0.065)	T-C(0.061)

观察数据

模板	新股
T-A(0.012)	A-T(0.031)
A-G(0.045)	T-C(0.061)
G-A(0.065)	C-T(0.045)

图 32-13 两个极性相反和极性相似的股中最近邻频率的比较。在草分枝杆菌模板股和新合成股所观察的数据(表 32-2)看来，当两股极性相同时就最相符合。

表 32-2 由草分枝杆菌的变性 DNA 模板[†]合成的 DNA 中的最近邻碱基频率

下面显示出的频率是按作为所有最近邻对的份数表示的;所有二核苷酸顺序均按 5'→3' 方向阅读。

二核苷酸	总 P 的份数	出现频率
标记的前身物=dATP		
T-A	0.075	0.012
A-A	0.146	0.024
C-A	0.378	0.063
G-A	0.401	0.065
标记的前身物=dTTP		
T-T	0.157	0.026
A-T	0.194	0.031
C-T	0.279	0.045
G-T	0.370	0.060
标记的前身物=dGTP		
T-G	0.187	0.063
A-G	0.134	0.045
C-G	0.414	0.139
G-G	0.265	0.090
标记的前身物=dCTP		
T-C	0.182	0.061
A-C	0.189	0.064
C-C	0.268	0.090
G-C	0.361	0.122

[†] 模板中碱基的克分子份数为 T = 0.165, A = 0.162, C = 0.335 和 G = 0.338。新合成的 DNA 里 C-A 的出现频率为 $0.378 \times 0.162 = 0.063$ 。0.378 为 A 总数中以 C-A 出现的部分; 0.162 为碱基总数中 A 所代表的部分。

另一个链末端 5'-磷酸根之间的磷酸二酯键的合成,就这样把两个 DNA 链的末端连接起来。生成新的磷酸二酯链需要能量,在大肠杆菌,酶是与 NAD⁺ 的焦磷酸键的断裂偶联起来的,而在大肠杆菌中由噬菌体 T4 的感染所诱导生成的 DNA 连接酶的情况下,则与 ATP α, β-焦磷酸键的断裂偶联起来。真核细胞的酶也利用 ATP。此酶要求将被连接的链在双螺旋里与互补的 DNA 股相联系,而将被连接的残基与另一股中邻近的碱基配对。DNA 连接酶只能在两链的末端之间生成单个磷酸二酯键;它不能复制那怕是一小片模板。

从大肠杆菌得来的 DNA 连接酶已经高度纯化;它是由一条分子量为 77,000 的单个多肽链所组成。在每个大肠杆菌细胞里约有 200 到 400 份 DNA 连接酶存在。反应机制不平常。NAD⁺ 正常地是氧化-还原反应的辅酶,但就 DNA 连接酶的情况而言它是作为腺苷酰基的来源。如 I. R. Lehman 与其同工作者证明的, DNA 连接酶反应分三步进行(图 32-14)。第一步,酶与 NAD⁺ 反应生成一个腺苷酰基-酶(AMP-E)这样的共价化合物;烟酰胺单核苷酸(NMN⁺)是 NAD⁺ 裂解的另一产物。在这里充当能量转移者起作用的腺苷酰基是与酶的专一赖氨酸残基的 ε-氨基通过磷酰胺键相连接的(图 32-15)。在 T4 诱导生成的 DNA 连接酶中由 ATP 裂解形成类似的 AMP-E 共价中间产物;其另一产物则

表 32-3 以天然的及酶促合成的小牛胸腺 DNA 为模板合成的 DNA 最近邻碱基频率

最近邻 5'→3'	模 板	
	天然 DNA	酶促合成的 DNA
pApA	0.089	0.088
pApG	0.072	0.074
pApC	0.052	0.051
pApT	0.073	0.075
pTpA	0.053	0.059
pTpG	0.076	0.076
pTpC	0.067	0.064
pTpT	0.087	0.083
pGpA	0.064	0.063
pGpG	0.050	0.057
pGpC	0.044	0.042
pGpT	0.056	0.056
pCpA	0.064	0.078
pCpG	0.016	0.011
pCpC	0.054	0.055
pCpT	0.067	0.068

DNA 连接酶

几个研究者几乎是同时报告了他们在大肠杆菌里发现的一种酶,即 DNA 连接酶,它能催化一个链末端 3'-羟基与

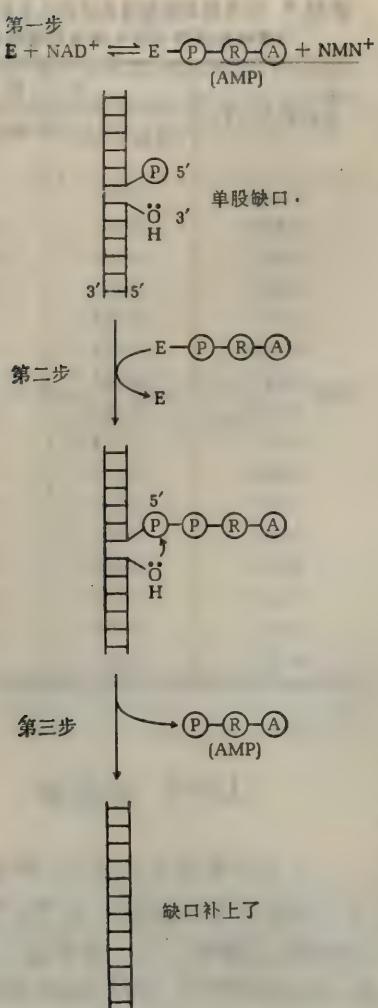


图 32-14 大肠杆菌中 DNA 连接酶作用的三步骤(下面)。第一步 NAD^+ 的 AMP 部分形成一个腺苷酸-酶中间物($\text{②}-\text{③}-\text{④}$ 称为 AMP 的磷酸-核糖-腺嘌呤)。第二步中 AMP 基团转移到缺口 5'-磷酸根处, 得到一种 5'-ADP 衍生物。第三步中 3'-羟基的亲核作用引起 AMP 的置换及缺口的封闭。(见图 32-15)

在细菌里重组过程发生在遗传转化, 转导和溶原化作用过程中; 在真核细胞里则发生在减数分裂时;

(4) 在 DNA 复制作用中与 DNA 聚合酶协作。

是焦磷酸而不是 NMN⁺。)第二步中, 腺苷酰基(以及它的化学能)从 AMP-E 转移到一个 DNA 股的 5'-磷酸末端生成一个新的焦磷酸键(图 32-15)。第三步中, 另一 DNA 段节的 3'-羟末端取代从第一 DNA 段节来的腺苷酰基而生成新的磷酸二酯键, 因而把 DNA 两个段节的 5'-末端和 3'-末端连接起来。

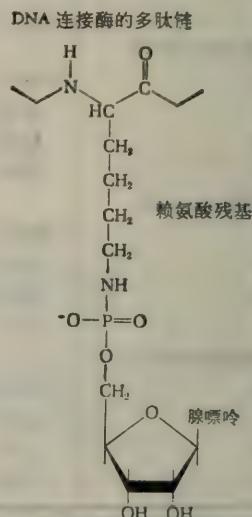


图 32-15 DNA 连接酶作用中酶-AMP 共价中间物的结构

不仅在细菌中也在许多真核细胞中已经发现 DNA 连接酶。它有几种功能: (1) 修补双螺旋 DNA 中的单股缺口;(2) 连接线状双螺旋 DNA 末端以产生环状 DNA, 这一过程需要在先的碱基与不对等的“粘稠”末端配对(图 32-16);(3) 在重组过程中将 DNA 的几节段连

由 DNA 聚合酶 I 与 DNA 连接酶的作用而酶促合成 $\phi X 174$ DNA

我们已经知道 DNA 聚合酶 I 复制模板股的两类证据, 即对第一代和第二代 DNA 作了碱基成分和最近邻碱基的比较。然而这些方法都有相当大的实验误差。DNA 聚合酶能否合成具有生物活性形式的 DNA 是对它的复制作用的精确性最严峻的考验。1968 年 M. Goulian, A. Kornberg, 和 R. Sinsheimer 通过高度纯化的 DNA 聚合酶 I 和 DNA 连

接酶的联合作用，成功地证实了小噬菌体 ϕ X 174 DNA 的实验室酶促合成，它是环状的具有生物活性的双股，或复制形的 DNA。他们的步骤概括在图 32-17 之中。原则上他们运用 ϕ X 174 的环状股作为 DNA 聚合酶 I 用的模板以制造出互补的股；然后运用 DNA 连接酶将线状产品转化为环状的。用了一个很有趣的设想简化了模板和产物股的分离。早已发现 DNA 聚合酶 I 能将正常核苷酸的某些类似物掺入到新生成的股里去，但只要

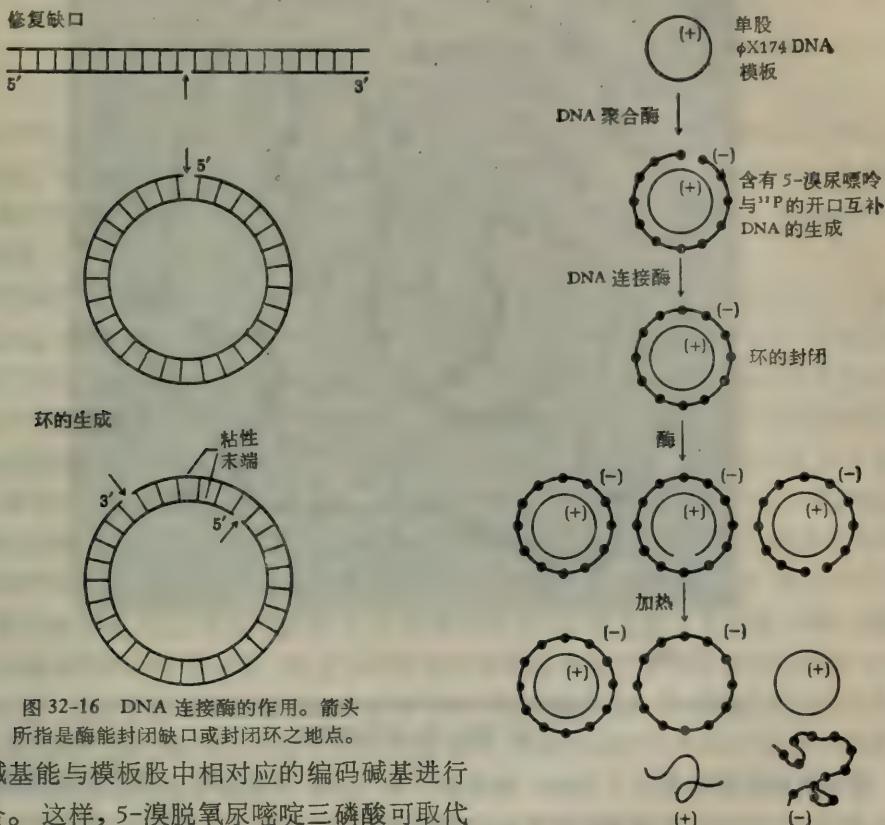
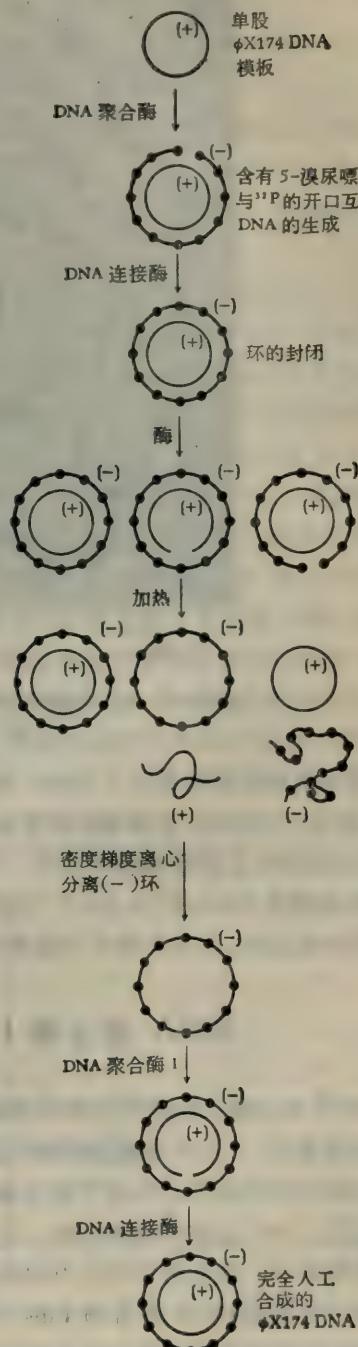


图 32-16 DNA 连接酶的作用。箭头所指是酶能封闭缺口或封闭环之地点。

非天然碱基能与模板股中相对应的编码碱基进行氢键结合。这样，5-溴脱氧尿嘧啶三磷酸可取代 dTTP 以与模板中的 A 残基相对应。这种溴尿嘧啶(BU)残基而不是正常的 T 残基受酶促作用掺入到新生成的股中，使得新股的浮力密度增加，所以它能用密度梯度离心法与模板分离。然后 DNA 聚合酶又从含 BU 的股制造出一个含有正常碱基

图 32-17 环状 ϕ X 174 DNA 的两股通过 DNA 聚合酶 I 的酶促合成。开始时用生物学上标记的 ϕ X174DNA (内含氟化的胸苷)的一股作模板以制造出互补的线型 DNA，在这种 DNA 中， ^{32}P 和 5-溴尿嘧啶(BU)代替了胸腺嘧啶[即(-)股]。然后用 DNA 连接酶封闭两端。先用脱氧核糖核酸酶处理，然后加热即生成一些未变的双环，完整的(-)环和线型(+)和(-)股，它们再经密度-梯度离心处理。酶促合成的(-)环 (由于它的 Bu 残基而具有较大的密度)被分离出来，并用作合成互补的(+)股的模板。其末端于是被 DNA 连接酶封闭而生成一种合成的 ϕ X 174DNA 环状(+)股，后者有传染性。[根据 M. Goulian, A. Kornberg, and R. L. Sinsheimer, Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.),

58: 2321 (1967) 重绘]



的互补股，并由 DNA 连接酶封闭之。曾发现新合成的环状 DNA 股是有传染性的。图 32-18 是部分合成的 ϕ X 174 DNA 的电子显微镜图片。



图 32-18 两个双股环状 ϕ X 174 DNA 分子的电子显微镜照片，其中一股是天然的，另一股是合成的。

这些精美的实验建立了 DNA 聚合酶 I 和 DNA 连接酶能合成有生物活性的 DNA 分子，假设有错的话，这是通过高度纯化的酶活性和具有已知生物活性的纯模板作用于高度纯化的底物，在试管里破天荒第一次创造的 DNA 分子。这实验也证明了 DNA 聚合酶能够制造病毒 DNA 的(+)和(-)股两者，但应该注意的是复制在两个连续的步骤中而不是同时完成的，因而不能认为是揭示了 DNA 复制的生物机制。

DNA 聚合酶 I 的核酸外切酶活性的功能

DNA 聚合酶 I 的两种核酸外切酶活性($3' \rightarrow 5'$ 和 $5' \rightarrow 3'$)基本上是保持复制精确性有关的附加活性。 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性的功用似乎是识别和水解移去(1)与模板没有碱基配对的引物末端和(2)由于部分融化而磨损了的引物股末端。因此活动方向与复制方向相反的 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性，还在延伸开始以前就保证了引物末端与模板是恰当地成碱基配对的。这个活性曾恰当地称为 DNA 聚合酶的校对功能(proofreading function)。

另一方面，DNA 聚合酶 I 的 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性确实是为聚合酶制造新链扫清道路的。它走在聚合酶活性之前从 DNA 股的 5'-磷酸末端开始水解磷酸二酯键，以切

除 DNA 不配对的一段，或含有化学上修饰了的或突变的核苷酸如胸腺嘧啶二聚体那类物质的一段节。 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶一边切除错配对的区域，聚合酶就一边补上去，一直到有 $3'-羟-5'-磷酸$ 缺口存在的那一点上为止。这缺口是由 DNA 连接酶共价地封闭起来的。因此 DNA 聚合酶 I 的两种核酸外切酶活性使它具备着除去进行复制的股中各种毛病的能力。

DNA 聚合酶 II、III 和 III*

然而，我们仍面临一个根本问题。为什么 DNA 聚合酶 I 不能利用天然双股 DNA 作为模板引物。如同我们预料中完整细胞里发生的那样呢？这个疑问引起人们设想 DNA 聚合酶 I 或许并不是正常复制 DNA 的酶。但它也许起一种附加的作用，可能是修补 DNA 的作用。

在寻找缺乏 Kornberg DNA 聚合酶而仍有复制能力的大肠杆菌变种工作中，近来测定原 Kornberg DNA 聚合酶是否即复制 DNA 的酶这个关键性的实验。1969 年在查验 3000 种以上由亚硝基胍诱导的变种以后，P. De Lucia 和 J. Cairns 报导他们发现这样一种称为 pol A1 的大肠杆菌变种。很明显这一变种能正常地繁殖，当用从野生型细胞中获得 Kornberg DNA 聚合酶所用的同样条件提取此细胞时，发现它含此酶很少或是没有此酶；然而，突变种细胞却含有与原 Kornberg DNA 聚合酶很不相同的残留 DNA 聚合酶活性。这样的变种虽然以正常的速率生长，但它们对像紫外线和 X 射线这样一些引起 DNA 伤害的力量非常敏感。它们也表现出由缺失引起的突变发生率增加以及缺少修补 DNA 中单股缺口和空缺的能力。这些发现确实表明，所缺失的 DNA 聚合酶不是复制 DNA 的酶，而主要是与修补 DNA 有关的酶。然后又把注意力集中在这些变种细胞里的残留的 DNA 聚合酶活性上。从这种变种里已分离出另两种 DNA 聚合酶，DNA 聚合酶 II 和 DNA 聚合酶 III。从野生型大肠杆菌细胞中也分离出这两种酶，接着发现它们含有所有的三种聚合酶。

表 32-4 大肠杆菌的 DNA 聚合酶 I, II 和 III 的比较†

	Pol I	Pol II	Pol III
DNA 聚合作用	+	+	+
$5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性	+	-	-
$3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性	+	+	+
引物			
完整双股	-	-	-
引发的单股	+	-	-
dNTP _n 的 K_M	低	低	高
-SH 试剂的抑制	-	+	+
分子量	109,000	120,000	180,000
每一细胞分子数	400	100	10
相对分子活性	1	0.05	15

† 引自 A. Kornberg, DNA Synthesis, P. 127, 1974。

在 M. L. Gefter, C. C. Richardson 和 R. Knipper 的实验室里几乎是同时发现的 DNA 聚合酶 II，能被巯基阻断剂有特征性地抑制，而 DNA 聚合酶 I 则不受抑制，虽然前

面已指出，此酶含有一个并非必需的-SH 基。用类似于提纯 DNA 聚合酶 I 的方法曾将 DNA 聚合酶 II 纯化到均一状态。它的分子量与 DNA 聚合酶 I 的几乎相同，约为 120,000，但其固有的分子活性或周转率则仅约有 DNA 聚合酶 I 的 5%。最重要的是在催化活性上有两种性质上的差别：(1)DNA 聚合酶 II 具有 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切活性但无 $5' \rightarrow 3'$ 活性，而 DNA 聚合酶 I 则两种活性都有，(2)DNA 聚合酶 II 对模板和引物两者有更严格的要求，它只对那些空缺或单股末端比 100 个核苷酸少的双螺旋 DNA 有效，而 DNA 聚合酶 I 则能与更宽范围的模板和引物起作用。特别是，DNA 聚合酶 II 不能与短的互补引物复制出长的单股，而 DNA 聚合酶 I 则与这种模板-引物有高度的活性。DNA 聚合酶 II 的生物功能尚不知道。

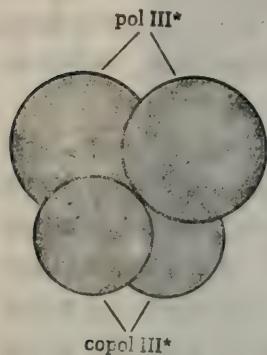


图 32-19 Pol III*-Copol III* 复合物。引发复制时必须有这个复合物，ATP，一个 DNA 模板，和一个 RNA 引物。在引发残基加上去以后 Copol III* 解离，放出 ADP 与 Pi。

DNA 聚合酶 III 是由 T. Kornberg (A. Kornberg 的儿子) 和 M. L. Gefter 在 1972 年发现的。此酶相当不稳定而且起初时不易测知；然而它经过上万倍的提纯达到了近乎均一的程度。它是三种聚合酶中活性最大的一种，它比 DNA 聚合酶 I 的活性大 15 倍，比 DNA 聚合酶 II 的活性大 300 倍。DNA 聚合酶 III 能被巯基阻断剂所抑制，它有所有两种核酸外切酶的活性，它对模板-引物的依赖性与聚合酶 II 的大致相同，且对其 dNTP 底物的 K_m 相当高。

A. Kornberg 和其同工作者的后来研究工作揭示了 DNA 聚合酶 III 以一种更复杂的形式，称为 DNA 聚合酶 III* (读作“星号 III”) 而存在。在这儿我们不如干脆开始采用略号 Pol I, Pol II, Pol III, 和 Pol III* 以代表大肠杆菌的 DNA 聚合酶类(表 32-4)。Pol III* 是 Pol III 的生物活性形式；认为它是 Pol III 的二聚体。Pol III* 需要一个附加蛋白质，辅聚合酶 III*(copol III*)。A. Kornberg 和其同工作者提供某些证据认为 Pol III* 与 Copol III* 结合生成 Pol III*-Copol III* 复合物(图 32-19)，它明显地引起 DNA 链生长的开端。然而首先我们必须考虑 DNA 复制的其它方面。

DNA 的短步复制

R. 冈崎与其同工作者发现当病毒 DNA 在大肠杆菌里复制的时候，最近生成的，或新生的 DNA 以短片出现，现在称为冈崎碎片。这是在低温下培育感染了的细胞以降低复制的速度并追踪氯化了的胸苷掺入 DNA 而确立的。实际上，加进标记胸苷以后很短间隔内生成的、所有标记了的 DNA 都以 1,000 到 2,000 残基的短碎片出现，它们的沉降系数只有 8S 到 10S。然而，若是细胞长期暴露于标记的胸苷时，则仅在高分子量 DNA 中发现有放射性。这些实验因而表明 DNA 先复制成短片，并很快通过共价键连接起来。(图 32-20)

不仅在病毒复制过程中而且也在细菌和真核细胞的复制作用中发现冈崎碎片。正如我们所已知的那样，DNA 连接酶能将单股 DNA 的末端连接起来，在缺乏 DNA 连接酶的大肠杆菌变种里有特别大量的冈崎碎片堆积。由此看来 DNA 连接酶的功用在于连接冈

崎碎片。进一步的实验已经测出正在复制的大肠杆菌或正在复制的病毒中双螺旋 DNA 的两个股都是用短片制造的。我们将会知道，短步复制 DNA 是一种手段，能容许那种只朝 $5' \rightarrow 3'$ 方向复制的聚合酶复制出 DNA 的反向平行的两股。

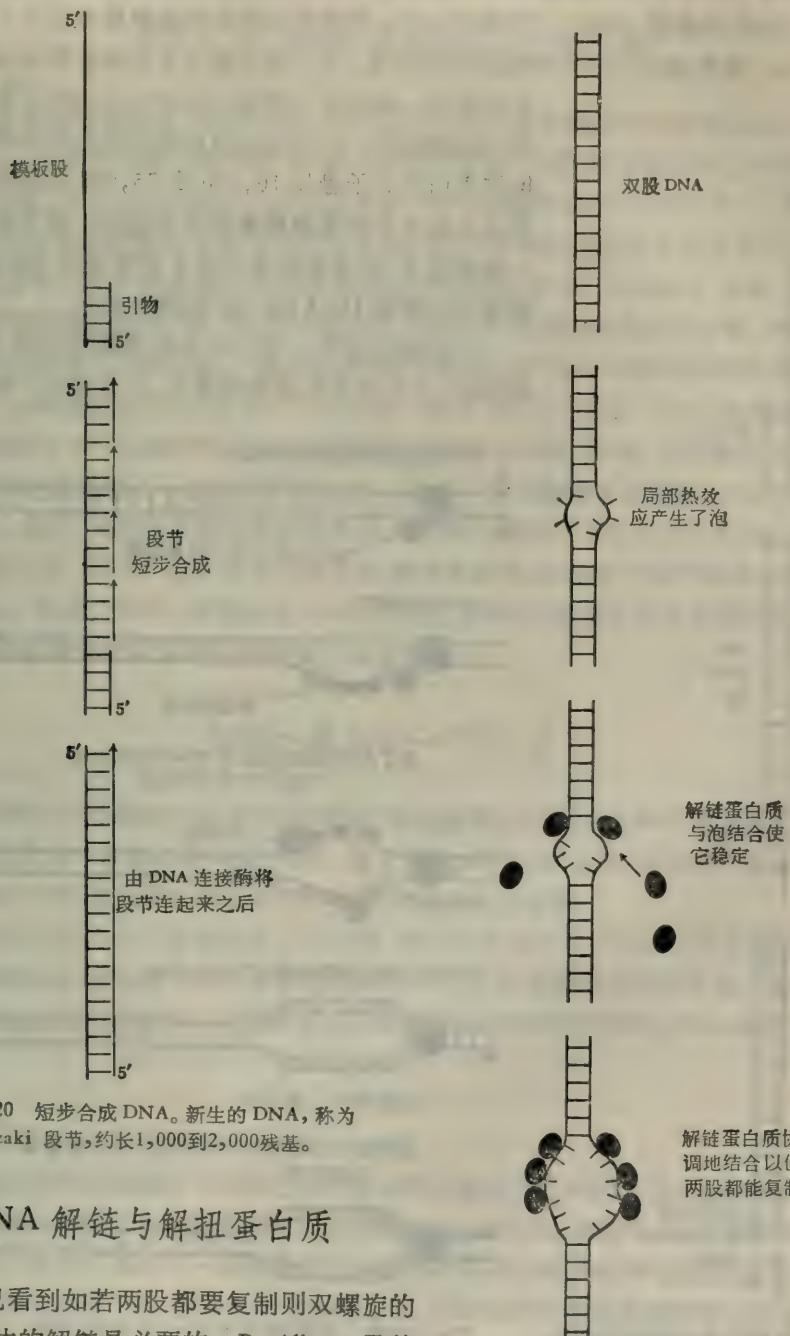


图 32-20 短步合成 DNA。新生的 DNA，称为 Okazaki 段节，约长 1,000 到 2,000 残基。

DNA 解链与解扭蛋白质

我们已看到如若两股都要复制则双螺旋的 DNA 染色体的解链是必要的。B. Alberts 及其同工作者发现“解链”蛋白，使这一令人迷惑的问题有所阐明，这是通过对病毒 T4 的基因 32 为 DNA 复制所必需的一种蛋白质（既不是 DNA 聚合酶，也不是 DNA 连接酶）编码的认

图 32-21 解链蛋白在分离双股 DNA 的股以利于复制时的活动的略图

识而有可能的。分离出这种蛋白质，而且发现它能在低于正常需要的温度约 40℃ 以下导致双螺旋 DNA 的变性。基因 32 蛋白与 DNA 单股强烈地结合而与完整的双股 DNA 却只微弱地结合；而且它与双螺旋 DNA 偶然暂时打开的短范围强烈结合。每当一个蛋白分子与微开着的双螺旋 DNA 中线圈结合时，线圈便与另添加的解链蛋白分子结合而打开得更多些。这种结合以一种协同的方式发生，每个蛋白质分子的结合都加强了后继一个的结合。Alberts 与其同工作者已从感染了各种不同病毒的细菌细胞，并且也从真核细胞里分离出解链蛋白。解链蛋白的分子量从 10,000 到 75,000 各不相同。它们具有与约 8 个脱氧核糖核苷酸残基的一短节相结合的专一结合位点；许多解链蛋白分子在复制叉（图 32-21）的前面与双螺旋 DNA 的一股连续地结合。

在复制过程中，当一个长的双螺旋环状 DNA 进行解链时，产生转矩且造成超螺旋。已分离出一种解扭蛋白

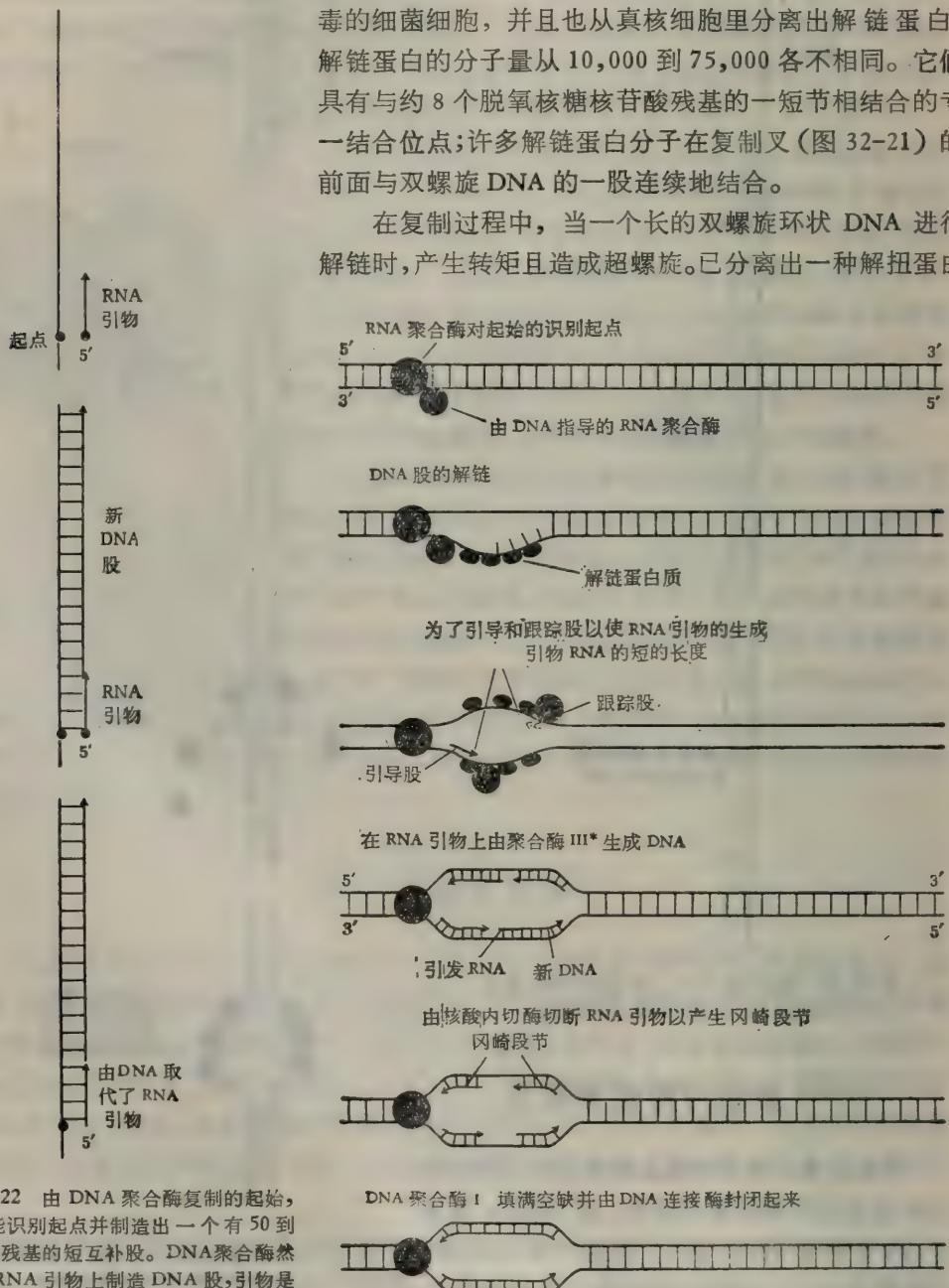


图 32-22 由 DNA 聚合酶复制的起始，此酶能识别起点并制造出一个有 50 到 100 个残基的短互补股。DNA 聚合酶然后在 RNA 引物上制造 DNA 股，引物是由 DNA 聚合酶 I 与 DNA 连接酶切除并用 DNA 插入取代的。

图 32-23 在 DNA 复制中假设的步骤顺序

质，也称为“转环酶”。它可能是在超螺旋 DNA 的一股上开个缺口，因而通过容许一些解链作用缓解扭转的张力，然后再封闭缺口。

RNA 在 DNA 链的起始中的功用

包括 DNA 聚合酶 III* 在内没有一种纯化的 DNA 聚合酶能利用天然双股 DNA 作为引物-模板。然而在完整的细胞里 DNA 的复制当然一定是在完整的双股染色体上进行的。另一方面，参与 DNA 转录以生成互补的 RNA 的酶即 DNA 指导的 RNA 聚合酶（以后讨论），已知它是能够从双股 DNA 转录的，而且能够在染色体上认明专一的起始点。DNA 聚合酶与 RNA 聚合酶之间这种奇妙的差异已经由 A. Kornberg 的和 R. 冈崎的实验室所发现的事实解答了。这个发现即在 DNA 复制的前面先有与双股 DNA 的一段相互补的一短股 RNA 的生成。这个引发 RNA 是由一种 DNA 指导的 RNA 聚合酶从核糖核苷 5'-三磷酸混合物中产生的。一旦引发 RNA 股已经制成，DNA 聚合酶即开始将从脱氧核糖核苷 5'-三磷酸产生的脱氧核糖核苷酸单位向着 RNA 引发股的 3' 末端加上去。以这种方式复制了一长段 DNA 以后，再由一种核酸酶将短短的 RNA 引发股切除（图 32-22）。而且冈崎已发现在大肠杆菌里，在复制过程中产生的小 DNA 碎片在它们的 5'-末端含有小片 RNA，这表明在 DNA 的逐步合成中，每制出一短节都要从一次 RNA 的运转开始。因此，DNA 复制是在 RNA 引物上起始的，这不仅是在复制的每一轮迴开始时如此，即在重复生成短的冈崎碎片时也是如此。

DNA 复制的一种假说

从上面的讨论中现在已经明白 DNA 的复制需要几种或许是多种酶与蛋白质的一体化作用，可能是在一种复合物中起作用。毫无疑问，在病毒，细菌，和真核 DNA 的复制中所必需的酶和其它蛋白质的明确的类型和数目将有某些差别。

虽然现在已经作出了显著而惊人的进展，但已有的知识还不足以使我们能构成 DNA 复制的详细假说。然而图 32-23 中和这里描出一个合乎情理的假说的大概。这个假说在出现更多证据时还必须要作一些修改，但它至少可在大肠杆菌复制过程中规定出某些专一的步骤。

起点的识别

细菌染色体的复制是在 DNA 上一个专一的点或起点开始的。以后会知道，为了识别起点或许为一特殊 DNA 指导的 RNA 聚合酶产生新 DNA 链的 RNA 引物提供“出发标记”，要求有一个或更多的专一的引发蛋白。有某些证据表明染色体里起点或某些别的专一点是固着在细胞膜上的。当染色体在解链之际，这种固着在帮助克服转矩力上是必需的。

DNA 的解链

在复制酶类起作用之先，几个解链蛋白分子与染色体的一股结合，且在双螺旋内打开一圈，或泡，使得一股或两股都能接受复制。大肠杆菌细胞含有大量解链蛋白副本，每

个细胞可能有 10,000, 表明它们在复制过程中的不同阶段使用了巨大的数目。

RNA 引发

然后 DNA 指导的 RNA 聚合酶生产出 RNA 的引物股，此酶需要核糖核苷 5'-三磷酸作为核糖核苷酸残基的前身物。引发 RNA 股与染色体的两股是互补的。这种互补 RNA 的引发股约有 50 到 100 个残基长。

DNA 在 RNA 引物上的生成

新 DNA 的前导股，它是依照 $5' \rightarrow 3'$ 方向从染色体的 $3' \rightarrow 5'$ 模板股生成的。认为它是在有 ATP 存在时通过 Pol III*-Copol III* 复合物的作用，向 RNA 的引发“行程”的 3' 末端加进脱氧核糖核苷酸残基而开始的。一旦当 DNA 股已经起步了，Copol III* 脱落，而 Pol III* 即完成模板股的复制。解链蛋白总是在复制叉的前头分离亲代 DNA 的双螺旋股的。

DNA 前导股是朝 $5' \rightarrow 3'$ 方向被制造的，而 DNA 的接续股则起步和被制造的方向与复制叉的移行方向相反。大概接续股是由 DNA 指导的 RNA 聚合酶开端以生成引物 RNA，然后由 Pol III*-Copol III* 复合物的作用接续以复制出一个 DNA 段节。前导股和接续股都是以 1000 到 2000 残基的短节制成，每个都是以引物 RNA 的一个节段开始的。这些冈崎碎片的起步可能得到与原点上复制的一轮开始时涉及的 RNA 聚合酶不同的 RNA 聚合酶的帮助而进行的。

RNA 引物的切除

一旦 DNA 的短片（冈崎碎片）已经制成，就从它的 5' 末端，一个一个残基地把引发 RNA 切除，这可能是由 DNA 聚合酶 I 或核糖核酸酶 H 的 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性来完成的。

短 DNA 碎片的连接

冈崎碎片之间留下的空缺然后被 DNA 聚合酶 I 用互补的脱氧核糖核苷酸残基将它填满，而邻近的 5' 和 3' 末端则由 DNA 连接酶将它们连接起来。

两个复制叉中的每一个都经过方向相反的多次短步复制循环以后，两叉相合。关于子代染色体如何完成以及聚合酶如何释放的事知道得很少。

再次强调这仅仅是 DNA 复制可能方案之一，在不同生物中细节可能不同。例如前面描述的由 DNA 聚合酶 I 与 DNA 连接酶促合成 ϕX 174 似乎不必需 RNA 引物。可能有些杂质低聚核苷酸为 ϕX 174 DNA 的合成提供了引物。此外，近来的研究表明 ϕX 174 DNA 的复制需要许多其它的专一性蛋白质。很清楚，在我们对病毒和细菌的 DNA 复制的机制有完全了解之前还需要做很多进一步的研究。

真核细胞中 DNA 的复制

虽然人们可以料到真核细胞里 DNA 的复制要比原核细胞里的复杂得多，但现已有了许

多可资利用的重要知识。真核细胞至少含有两种不同类型的 DNA 聚合酶，虽然还不知道它们的功用是否与原核细胞的 DNA 聚合酶 I, II, 或 III 相当。真核细胞也含有 DNA 连接酶，它需要 ATP 作为腺苷酰基的供体。

从放射自显术法和电子显微镜法已经发现果蝇卵细胞中 DNA 分子是以双向方式复制的，因而与上述大肠杆菌中的复制过程相似。然而，与从单个原始点开始不同，真核 DNA 的复制是从多个原始点开始的，因此形成许多个“眼”，当亲代 DNA 股分离和复制直到这些眼相会合。多个原始点是必需的，因为真核 DNA 的长度大而且真核细胞复制又移动比较慢，与大肠杆菌每分钟约 16,000 碱基比较它每分钟只移动约 2600 碱基。如果真核细胞中仅有一个复制叉的话，则核中 DNA 的完全复制至少需要两星期。然而一个果蝇卵细胞在约 3 分钟内就完成复制，认为这是同时运用 6,000 个复制叉完成的。

正如在原核细胞中那样，真核 DNA 的复制是以短步进行的，此时每个冈崎碎片是在一个约 10 个核苷酸长的短 RNA 引物上制成的。然而，真核中的冈崎碎片（约 100 到 150 核苷酸）比原核中的（1,000 到 2,000 核苷酸）短多了。切除 RNA 引物后由 DNA 连接酶将冈崎碎片连起来。真核染色体的复制必需可溶性的细胞质因子，它们在复制的起步中有明显的功用，可能是从 DNA 上解离组蛋白和其它蛋白质。

DNA 的修补

DNA 是一种比较脆，容易损坏的分子。然而，细菌基因能经受若干百万次复制循环而仍无变化。在很大的程度上 DNA 的信息内容的完整性是由那些只要含有互补信息的另一股还完整它就能精确地修补 DNA 一股上某种损伤或缺陷的酶来保护的。

在体内 DNA 能遭受几种损害(1)弯折或剪力可以造成单股或双股破损；(2)局部 pH 变化可造成嘌呤碱基的丧失；(3)从四周环境中来的化学剂可修饰一个或更多的碱基；(4) X 射线或紫外光能引起碱基中的化学变化。紫外光照射常对两个邻近的胸腺嘧啶残基产生二聚化，生成胸腺嘧啶二聚体。

有三种主要类型的修补机制。第一种，酶促光复活作用 (enzymatic photoreactivation)，仍不很清楚。这过程是用可见蓝光照射细胞而达成的。这种光复活作用需要一种能与 DNA 上缺陷部位结合的专一酶。光照造成酶吸收光能；被吸收的光能以某种方式在单股中缺陷上促进共价键的切除。最常见的光复活作用过程就是切除胸腺嘧啶二聚体的异常环，丁烷环，生成两个游离的胸腺嘧啶残基。可以利用可见光通过这种方式由紫外线修补 DNA 的损伤。

另一类型的修补机制为切除修补，它与光无关故称为一种“暗”修补法，是由四种酶活性的连续作用以完成的。例如，若缺陷是胸腺嘧啶二聚体，则能由 DNA 聚合酶 I 的 5'→3' 核酸外切酶活性所察觉，此酶有巡逻的功能且可在缺陷的 5' 侧作切除。然后这有缺陷的节段由 DNA 聚合酶 I 的聚合酶功能用正确的碱基对取代了，此酶还切除了有缺陷的节段。通过 DNA 连接酶的作用将新股的 3' 末端与保持完整的股的 5' 末端连接起来。曾经称这为“切，补，切和封”的过程。（图 32-25）

在第三类型修补过程中受损的双螺旋 DNA 的一股中的一大节段被另一 DNA 分子相应的完整节段所取代；简言之，基因的一部分被另一 DNA 分子的一部分所取代。这就

是所谓重组修补；这是更普通的遗传过程的一种特殊情况，在这过程中从一个染色体来的基因共价结合进入另一染色体。例如，在宿主细胞里染色体受病毒损伤以后就发生重组修补。

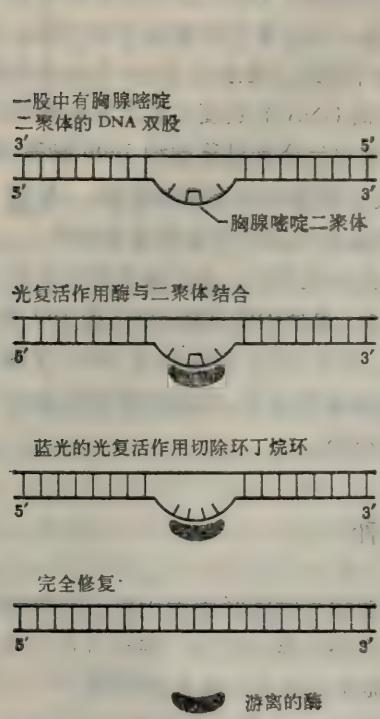


图 32-24 光复活作用对胸腺嘧啶二聚体的修补。[引自 P. C. Hanawalt, *Endeavour*, 31: 83 (1972)]

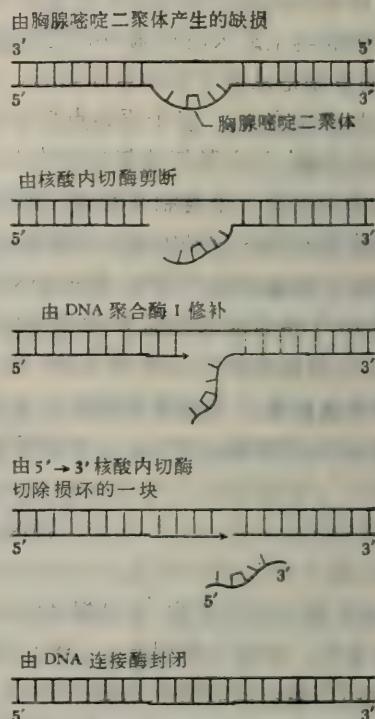


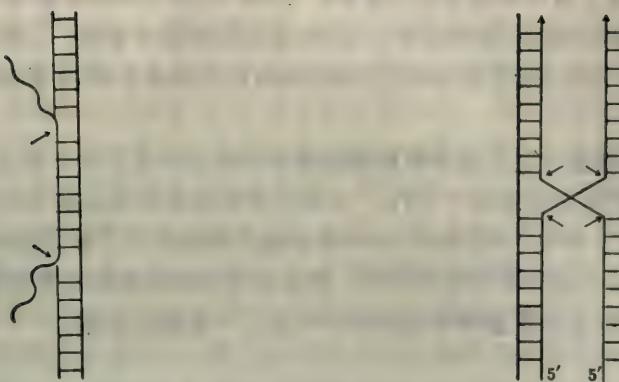
图 32-25 通过酶促过程切除一个胸腺嘧啶二聚体。[引自 P. C. Hanawalt, *Endeavour*, 31: 83(1972)]

着色性干皮病是一种少见的人类遗传疾病，患者的皮肤对日光的紫外成分异常敏感。这种病人有发展成皮肤癌的倾向。J. E. Cleaver 发现，此病是由于遗传缺失正常时在由紫外线引起的胸腺嘧啶二聚体中参加切除修补的一种酶，它可能就是第一次切除，或第一刀所需要的核酸内切酶。已经发展了一种诊断着色性干皮病的检查法，即对皮肤成纤维细胞培养抽提物的修补能力的体外分析。还有几种其它人类遗传紊乱涉及 DNA 修补的缺陷，包括 Bloom 氏病，Fanconi 氏贫血症和早衰症，它可引起早期衰老和死亡。牛有一种类似的 DNA 修补遗传病，称为“牛眼”，造成几乎是 100% 的癌发病率。

DNA 的重组：外来基因有指导地掺入染色体

重组就是染色体之间交换基因。它经常发生在细菌细胞的转化中，在病毒转导中以及真核生殖细胞减数分裂过程中基因的互换或交换（crossing-over）中。已经提出过很多重组机制的可能模型，所用的酶都已描述过的，如核酸内切酶，DNA 连接酶和 DNA 聚合酶 I。图 32-26 中显示出重组过程的两种可能模型。

这种反应最近已用于体外实验，使来自噬菌体 λ 或大肠杆菌染色体的某些基因掺入



向双股 DNA 插入一个基因

DNA 段节的交换。在标明的点上核酸内切酶进行切断，然后由 DNA 聚合酶 I 填充空缺，和由 DNA 连接酶封闭之。

图 32-26 两个类型的基因重组

到一种动物病毒，致癌的猿病毒 40 中去，这种病毒能引起正常动物细胞转化成癌细胞。

反过来，真核染色体为 rRNA 编码的部分（从爪蟾来的），已成功地掺入到大肠杆菌的分离的质粒中，然后又将它们引进完整的大肠杆菌细胞中去。这种受体细胞已经过多少遍复制并转录过从爪蟾引进的基因。因此基因可以在动物染色体和细菌染色体之间进行实验性转移，这种可能性曾引起社会上的不安以及提出有关人类安全和健康的问题。例如，用实验方法将从动物或动物病毒来的“癌”基因掺入到普通肠中细菌大肠杆菌中去，可以想像这将导致癌基因在人类中广为传播。另一方面，这种实验也带来希望，有朝一日高等动物和人类的染色体中的基因缺陷能用从另一种有机体得来的“好”基因经过移植而得以修补。

RNA 指导的 DNA 聚合酶(反转录酶)

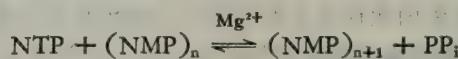
已知有许多 RNA 病毒在敏感的动物里引起癌。它们包括劳氏肉瘤病毒 (RSV)，它在鸡里产生癌，鸟类成髓细胞过多症病毒 (AMV)，它在鸟类中产生白血病，还有一种在齶齿类动物中产生乳腺癌的病毒。这些病毒的特点是能在体外引起永久性的，可遗传的某些正常细胞至恶性癌细胞的转变。本世纪 60 年代初期 N. M. Temin 假设这些病毒的 RNA 含有癌基因，必须转录成 DNA 的形式才能变成掺入宿主细胞基因组的一个永久的，可遗传的部分，这是通过由肿瘤病毒 RNA 指导的 DNA 聚合酶的作用而成为可能的。这一观点在多少年内很少有人承认；因为它违背了分子遗传学的中心教条，此教条坚持遗传信息从 DNA 传到 RNA 再到蛋白质。然而，Temin 和 D. Baltimore 同时发现 RNA 肿瘤病毒粒子本身含有 RNA 指导的 DNA 聚合酶，也称反转录酶，终于证实了 Temin 的假说。已从几种不同的 RNA 肿瘤病毒中分离并纯化了这些酶类，其分子量为 70,000 到 160,000。反转录酶类与由 DNA 指导的 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶很相似的地方是，它们按 5'→3' 方向制造 DNA，利用脱氧核糖核苷 5'-三磷酸作为前身物，而且需要一个必须具有游离 3'-羟基末端的引物股和一个模板。在包括病毒粒子中存在的极大的 RNA 在

内的天然 RNA 模板上反转录酶是很活跃的。DNA 与它们的 RNA 模板产生杂交化。反转录酶也能利用 DNA 模板，虽然后者比 RNA 模板的效果要差些。已经从某些动物的恶性细胞和从患白血病的人类患者分离出反转录酶；它们和某些 RNA 肿瘤病毒的反转录酶极为相似。

然而，在动物细胞里以及没有被肿瘤病毒感染的认为是正常人身上也发现有反转录酶；在野生型大肠杆菌里也发现了它们。这种反转录酶能利用或是 RNA 或是 DNA 作为模板。正常细胞中以 RNA 为指导的 DNA 聚合酶的功能还不了解；它的存在说明从 RNA 转录信息到 DNA 中去是一个正常的过程，例如在合成某些基因的多重复制品时。因此，对反转录酶的认识已在生化遗传学的研究中开辟了一些新的道路。

RNA 的生物合成：DNA 指导的 RNA 聚合酶

自从发现了 DNA 聚合酶和它有赖于一个模板就开始了对参与转录的酶的积极寻找活动；转录就是与染色体 DNA 的一股互补的 RNA 的生成。1959 年三位研究者，S. B. Wiess, J. Hurwitz, 和 A. Stevens, 各自独立地发现了一种能从核糖核苷 5'-三磷酸生成一个 RNA 聚合物的依赖 DNA 的酶；生成的 RNA 是与 DNA 模板互补的。此酶称为 DNA 指导的 RNA 聚合酶，它的作用与 DNA 聚合酶极相似。反应需要 Mg^{2+} 且在进行中释放出焦磷酸。RNA 聚合酶催化下列反应



反应的进行必需有 DNA。同一个时间需要所有四种核糖核苷 5'-三磷酸。生成的 RNA 聚合物具有 3', 5'-磷酸二酯键且能被核糖核酸酶和脾脏以及蛇毒的磷酸二酯酶所水解。聚合酶向 RNA 链的 3'-羟基末端加上单核苷酸单位且因此朝 5' → 3' 方向建造 RNA，这方向与作为模板的 DNA 股是反向平行的。正如 DNA 聚合酶那样，酶促焦磷酸的水解对保证反应在细胞里走向合成方向有所帮助。已在许多细菌，植物，和动物细胞里鉴定出 RNA 聚合酶。在动物细胞里至少有三种形式的酶。也在线粒体和叶绿体中发现 RNA 聚合酶，在那儿它们参与线粒体和叶绿体 DNA 的转录。

从许多不同来源得到的由 DNA 指导的 RNA 聚合酶已得到纯化。知道最清楚的是大肠杆菌的，它已由 R. R. Burgess 及其同工作者获得均一的形式。其分子量约为 490,000 且含有四种不同亚基称为 α , β , β' 和 σ (西格玛) 亚基。完整全酶里的亚基比率为 $\alpha\beta\beta'\sigma$ 。其它蛋白质被称为 ω (奥米加), ρ (罗), 和 κ (卡巴)，在细胞内条件下与 RNA 聚合酶协同转录染色体段节。全酶曾解离成亚基并成功地由一种专一的顺序的自我集合重新组成具有活性的形态。可以从 RNA 聚合酶移去 σ 亚基而无损于活性，并得到核心聚合酶。这个和其它资料表明 σ 亚基在催化中不起作用但它是一种调节亚基。

模板专一性与转录的起步

RNA 聚合酶与从不同来源来的双股天然 DNA 作用时最活跃而与单股的或变了性的 DNA 作用时就不那么活跃。合成的 DNA 聚合物如多聚 (dT) 或交替的共聚物 poly

(dT_C)，也可作为模板，然而精确度有所损失。

在细胞内的条件下 RNA 聚合酶分子正常时只转录双股 DNA 的一股。整个全酶能够识别并且在专一的起步位点上与 DNA 结合，起步位点似乎是 10 个或更多的残基的富于嘧啶的结构。这种起步位点在 DNA 模板里相隔很宽。西格玛亚基的存在对于保持全酶于适当的构象以与 DNA 模板上的起步位点相结合是必要的。继聚合酶与模板结合之后模板中的股分开并在全酶中发生构象变化。然后第一个或起步的核苷 5'-三磷酸（这总是 ATP 或 GTP）与聚合酶结合生成起步复合体。第一个核苷酸之间键的生成是在第二个核苷 5'-三磷酸结合之后，而这个核苷 5'-三磷酸通常是嘧啶核苷（UTP 或 CTP）。第一个磷酸二酯键是通过起步的嘌呤核苷 5'-三磷酸的 3'-羟基对第二个核苷三磷酸中的 α -磷原子上的亲核作用而生成的；从第二个 NTP 衍生出来的无机焦磷酸成为离去的基团。

将会注意到第一个（嘌呤）核苷 5'-三磷酸在第二个以及接连的核苷酸残基加上去以后仍保留着它的 5'-三磷酸根。因此这个基团使得人们能认出 RNA 分子的起始端，或 5' 末端。

RNA 链的延长和终止

一旦头两个核苷酸残基已经连接，链延伸很快，转录向 5'→3' 方向进行，与模板 DNA 的 3'→5' 股反向平行。在延伸过程中新生成的 RNA 的一段形成一个过渡的互补杂种 RNA-DNA 双螺旋。然而，RNA-DNA 杂种双螺旋比 DNA-DNA 双螺旋不稳定得多；于是新的 RNA 链在转录叉上倾向于从 DNA 分离出来。一旦约有 10 个核苷酸残基已经加上时， σ 因子就从全酶上解离并产生核心酶，此酶进一步进行复制 DNA 模板。游离的 σ 因子与另一分子的核心酶又可供一个新的 RNA 链的起步。

RNA 沿着 DNA 模板继续延伸直到核心聚合酶分子到达一个链终止的信号为止。因为被转录的 DNA 含有很多基因而且常常是环状的故必需有专一的终止信号；没有一个终止信号，RNA 就无限地制造下去。此外，不同种类的 RNA 如 tRNA 和 rRNA 有很专一的链长度。RNA 终止信号的精确性质还不知道，但噬菌体 λ 的 DNA 中的一个这种信号就是一片的 U 残基。 ρ 和 κ 蛋白质，它们对 RNA 聚合酶有补助作用，但它们不是酶的一部分，似乎参与终止和放出 RNA 链。

DNA 指导的 RNA 聚合酶的产物

RNA 聚合酶生成的 RNA 其碱基成分与模板 DNA 股的碱基成分成互补；在 RNA 中尿嘧啶残基是与 DNA 模板中的腺嘌呤残基互补的。RNA 与 DNA 模板的互补性可由最近邻碱基频率分析表示，这分析也可指示出 RNA 链与模板 DNA 链的极性相反。互补性也曾用杂交技术表示出来。

当高度纯化的大肠杆菌 RNA 聚合酶与完全完整的双螺旋 DNA 模板相遇时，双股中仅有一股被转录。然而，不是细胞中所有 RNA 都从同样的专一股转录来的；某些 RNA 从一股 DNA 被转录，而其它 RNA 又是从另一股 DNA 转录。为转录选择 DNA 股的机制还不知道。

大多数已有的证据表明在大肠杆菌中只有一种 DNA 指导的 RNA 聚合酶，它制造了 mRNA, tRNA 和 rRNA。然而，真核细胞里却至少有三种不同的 RNA 聚合酶，分布在核仁中，在核原生质中，以及线粒体中。

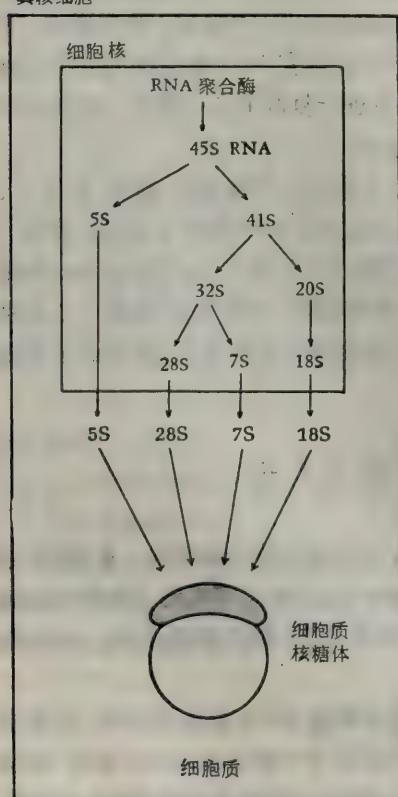
RNA 的转录后加工

由 DNA 指导的 RNA 聚合酶所合成的 RNA 在转录之后，以及在成为有功能的产品——mRNA, rRNA，和 tRNA——而被释放之前，还需要酶促加工或修饰。在真核细胞里特别是如此，它进行着复杂的 RNA 成熟过程。

真核细胞里有一类转录后的加工涉及到向信使 RNAs 的 3' 末端接上一块含有 200 或更多 AMP 残基的多聚 A。这反应是在细胞核内进行的。认为在将 mRNA 从细胞核转移到细胞质时，这多聚 A “尾”能有帮助，紧接着它就被除去。

大肠杆菌的 16S 和 23S RNA 似乎是以单独一条长 RNA 股而形成的，它被裂解为二个碎片，一片含 16S RNA 而另一片则含 23S RNA。然而，这些碎片的每一种都有额外的核苷酸残基，后者在被核酸酶作用移除以后便得到完成的 16S rRNA 和 23S rRNA。准备掺入到核糖体中去。5S rRNA 也是作为较大的前身物形态制成的。

在真核细胞中 rRNA 是以在核仁里与蛋白质结合的单条大 45S RNA 股的形态制造的。45S 的前身物 RNA 被切成 5S 和 41S RNA；后者再切成 20S RNA 和 32S RNA。此 32S RNA 是存在于真核细胞的细胞质核糖体内的最终 18S rRNA 和 28S rRNA 的前身物。(图 32-27)



在原核细胞和真核细胞两者中转移 RNA 也能从高分子量的 RNA 前身物形成。例如，酪氨酸 tRNA 的前身物在 5' 末端处有 41 个多余的核苷酸残基在 3' 末端有 3 个残基；这种形式中没有一个碱基是被甲基化了的。然后从两个末端酶促移除多余的核苷酸残基，tRNA 分子中的专一碱基通过各种酶促反应例如通过甲基化、乙酰化、脱氨作用、还原作用、重排，或附加上异戊烯基或—SH 基加以修饰。

RNA 合成的抑制剂

已知有许多不同化合物能抑制 RNA 聚合酶对 DNA 的转录。在鉴定上述转录的不同阶段上某些抑制剂很有用。有一类通过与 DNA 模板结合并改变它的结构而干扰转录；另一类型与 RNA 聚合酶结合而干扰它的活性。

所有 DNA 专一的抑制剂皆与 DNA 生成非

图 32-27 真核细胞中核糖体 RNA 的成熟

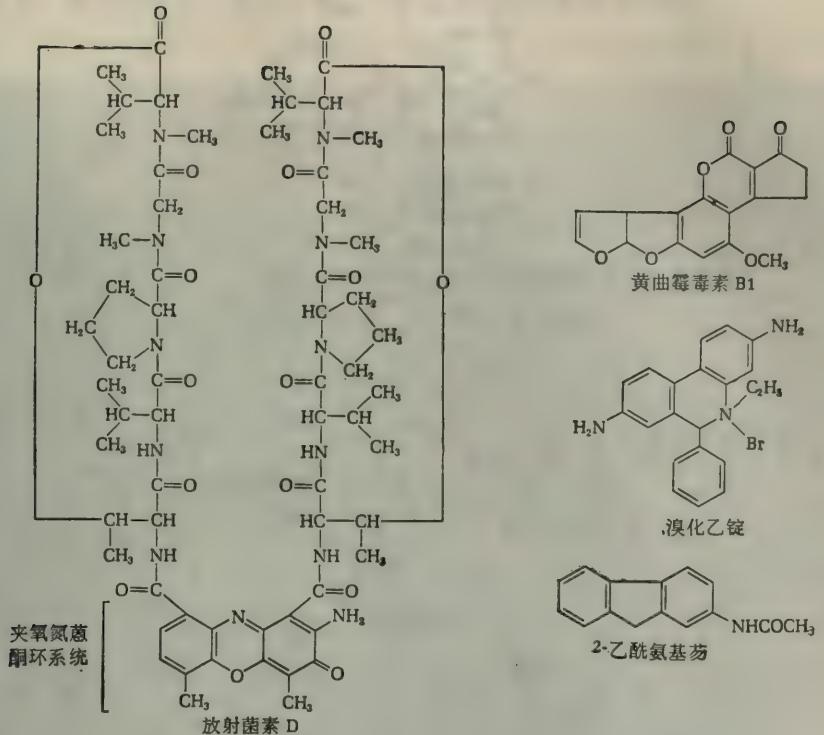
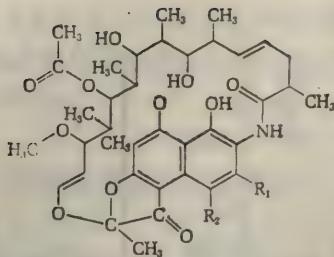


图 32-28 嵌入剂阻断 DNA 的模板功能(左图)。放射菌素 D, 当它与 DNA 双股结合时, 扁平的夹氧氮蒽酮环系统嵌进两个相继的鸟嘌呤-胞嘧啶对的中间, 而两个五肽侧链正平卧在双螺旋的小沟中, 每个皆通过氢键与对面 DNA 链结合(右图)。另外三个平面的缩合环化合物, 能在两碱基对之间嵌入。

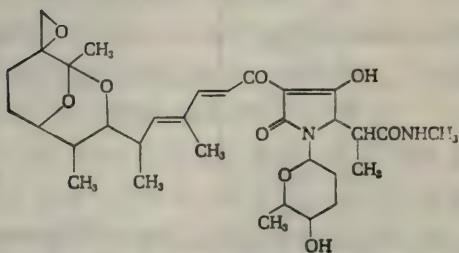
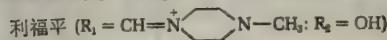
共价复合体而损害其模板功能。这种药剂中最重要的是放线菌素 D, 它是链霉菌属产生的一种抗菌素,(图 32-28), 它的夹氧氮蒽酮环嵌进两个 G-C 碱基对之间, 而它的五肽侧链则与 G 残基以氢键结合而且伸出到双螺旋 DNA 的浅沟中。放线菌素 D 对 RNA 聚合酶与 DNA 的结合没有影响, 但它偏爱阻断链的延伸。它穿透进完整细胞中, 在细胞中它能抑制转录而不影响细胞代谢的其它方面。DNA 复制要比转录对放线菌素 D 的敏感性低得多。

另一种与 DNA 结合的药剂是溴化乙锭(图 32-28), 认为它也在两个连续碱基对之间嵌入。在低染料浓度下它优先与如在线粒体中那样的超螺旋环状 DNA 结合。黄曲霉毒素, 由真菌黄曲霉产生的, 此霉生长在花生上, 此毒素是能引起肝癌的一种非常剧烈的致癌物; 它抑制 DNA 的复制与转录两者, 正如人工合成的致癌物 2-乙酰氨基芴那样。

在那些对 RNA 聚合酶本身起抑制作用的药剂中(图 32-29)有一类细菌抗生素称为利福霉素; 它们是细菌 RNA 聚合酶的强烈抑制剂, 但对某些病毒和大多数真核细胞的核 RNA 聚合酶无效。这类化合物中用得最多的是利福平(rifampicin), 是天然产生的利福霉素的合成衍生物。利福平与某些物种的 RNA 聚合酶的 β -亚基非共价地结合, 且阻碍起步复合体的生成, 但它不影响 RNA 的延长。利链菌素与利福平相反, 阻断 RNA 链的延长。 α -鹅膏蕈碱是一种称为鹅膏蕈的毒蕈的毒素, 它能阻断真核细胞中的核中 RNA 聚合酶的一种, 但不影响细菌的、线粒体的、或叶绿体的 RNA 聚合酶。



利福霉素 B ($R_1 = H$; $R_2 = O-CH_2-COOH$)



利链菌链

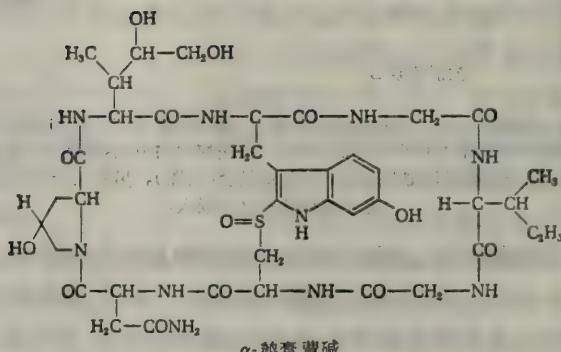
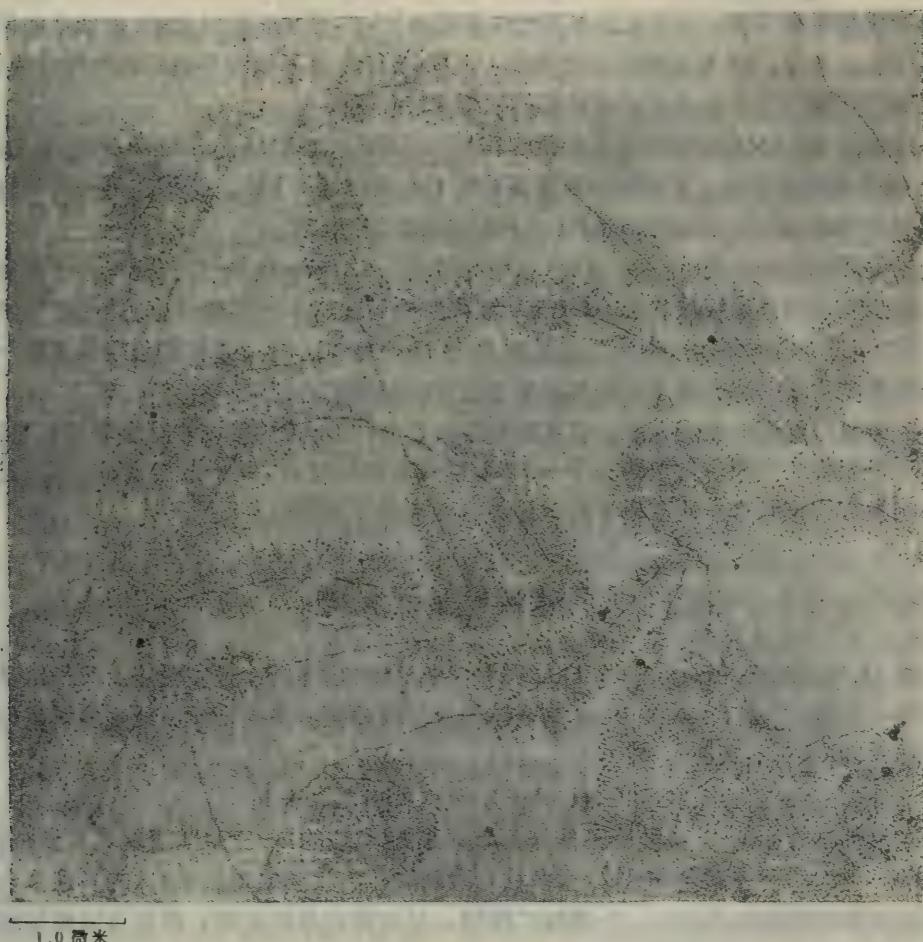


图 32-29 DNA 指导的 RNA 聚合酶的抑制剂

转录过程的形象化

两栖类的卵细胞中，为 rRNA 的合成编码的基因都位于核仁中。在卵细胞早期生长过程中，大量合成 rRNA。从这种细胞里分离出来的核仁物质的电子显微镜图表明它含有直径约为 10 到 20 毫微米的细长纤维，它们在周期性的间歇处被毛发状的放射状原纤维包裹着；原纤维逐渐增加长度（图 32-30）。核心纤维继续伸展穿过由一个包着蛋白质的 DNA 丝所组成的这些结构。每一段节约有 100 个长发状的原纤维是 RNA 的股带，它们很可能也用蛋白包裹着。用羽毛状 RNA 原纤维裹着的每一 DNA 段节就是一个正在进行转录的 rRNA 的基因。在一个基因上同时可制造很多 RNA 链，每一链是通过一个 RNA 聚合酶分子随着 RNA 链的生长沿着基因移动而生成的。用 RNA 原纤维裹着的 DNA 段节的长度约 2 到 3 微米，这大约是为真核细胞 18S 和 28S rRNA 的前身物编码所需的。

DNA 的长度。没有被转录的核心纤维的段节就是间隔物或调节 DNA。



1.0 微米

图 32-30 一个两栖类卵细胞的核仁基因的电子显微镜照相。作为核糖体 RNA 密码的基因沿着 DNA 重复。由于每个都在转录成为 rRNA，它们是可以被识别的。当 RNA 聚合酶分子沿着基因移动时约有 100 股 rRNA 同时形成，活性基因之间的节段可能是调节的或“间隔者”DNA。

病毒 RNA 的复制：RNA 复制酶

本世纪六十年代初 N. Zinder 就发现了对大肠杆菌有专一性的 RNA 噬菌体，在研究信使 RNA 结构和功能方面它们已变成重要的工具。人们熟悉的 RNA 噬菌体包括 f2, MS2, R17, 和 Q β 。这些病毒的 RNA，它们作为病毒蛋白合成的信使 RNA 而起作用，是由一种称为 RNA 指导的 RNA 聚合酶，也称为 RNA 复制酶的作用在宿主细胞中复制的。这些酶通常并不存在于宿主细胞中，但当细胞感染了一种 RNA 病毒时它们就产生了。

从感染了 Q β 病毒的大肠杆菌细胞里分离出来的 RNA 复制酶能催化从核糖核苷 5'-三磷酸中生成 RNA，并放出焦磷酸；这个反应与 DNA 指导的 RNA 聚合酶的反应在形式上相似。RNA 的合成朝 5'→3' 方向进行。RNA 复制酶要求 RNA 作为模板，它与 DNA 不

起作用。然而，它与 DNA 和 RNA 聚合酶相反，RNA 复制酶是模板专一性的。由 Q β 病毒诱导的 RNA 复制酶只能用 Q β 病毒的 RNA 作为模板；宿主细胞的 RNA 没有被复制。这一事实清楚地说明，在含有许多其它类型的 RNA 的宿主细胞里 RNA 病毒是如何被优先复制的。此外，Q β 复制酶要求完整的 Q β RNA 分子而不能利用它的碎片作为模板；因而就能防止制造出不完善的或有缺陷的病毒 RNA 来。

纯化的 Q β RNA 复制酶能进行新的有生物活性的 Q β RNA 分子的净合成。用 Q β (+) RNA 股作为模板开始，复制酶能制造互补的 Q β RNA(−)股。这些在另一次与酶保温中又可用作模板以获得和开始时的(+)股相同的 Q β RNA。

已发现酶促合成的(+)Q β RNA 有传染性的。S. Spiegelman 与其同工作者重复这种循环多少次直到原始天然模板 Q β RNA 被稀释到可忽略不计的量为止。然而在复制的每一阶段，RNA 的传染性与由酶生成的新 RNA 成准确的比例。这些实验表示了第一次用一个高度纯化了的酶完成了一个具有生物活性的核酸的合成。

三种蛋白基因产物的大部分氨基酸顺序以及 R 17 RNA 的很多核苷酸顺序都已知道。它们对将在第三十四章讨论的关于 mRNA 的各种结构特点，关于遗传密码，以及关于翻译的起步和终止的专一性密码子的运用等方面提供了重要信息。

多核苷酸磷酸化酶

由 M. Grunberg-Manago 和 S. Ochoa 1955 年发现的这种酶，是发现能合成长链多核苷酸的第一个酶；它是 DNA 和 RNA 聚合酶的原型或前驱。多核苷酸磷酸化酶看来只在细菌里存在，能催化下列反应



它要求核糖核苷的 5'-二磷酸而不能作用于同系的(类似的)5'-三磷酸或脱氧核糖核苷 5'-二磷酸。它的作用还需要 Mg²⁺。由多核苷酸磷酸化酶生成的类似 RNA 的多聚体含有一个能被核糖核酸酶作用的 3', 5'-磷酸二酯键。反应是容易可逆的，而且可以通过增加磷酸浓度而推向分解多核苷酸的方向。

多核苷酸磷酸化酶并不使用模板，因而不生成具有专一碱基顺序的多聚体。它却要求一个引发 RNA 股，这仅仅是为后加的残基提供一个可向上面加的游离 3' 羟基末端。此反应能够像和所有四种单体一样好地和一种单体进行。一般由酶产生的多聚体碱基成分，反映出培养基中 5'-二磷酸前身物的相对浓度。由于这些原因多核苷酸磷酸化酶在完整细胞里不像是正常地起制造 RNA 的作用。有人认为它在细菌里起降解信使 RNA 的作用。然而，多核苷酸磷酸化酶在分子生物学上已经起了很重要的作用，因为可以用它在实验室里制备许多不同种类的、具有不同碱基顺序和频率的、类似 RNA 的聚合体。这种合成的 RNA 聚合体在推断氨基酸的遗传密码言词时是极其重要的。

摘要

在 Meselson 和 Stahl 的经典实验中证明了完整大肠杆菌细胞中双股 DNA 进行半保守性复制。放射自显术的，遗传的和生物化学的实验都证明环状细菌染色体的复制是双

方向性的；而且两股是同时复制的

大肠杆菌的 DNA 聚合酶 I 在有 Mg^{2+} 存在时催化从四种脱氧核糖核苷 5'-三磷酸合成 DNA 聚合体，释放出焦磷酸。反应要求有一些先存在的 DNA 作为模板-引物。链朝 5'→3' 方向生长。完整的双股 DNA 除非它有单股缺口否则不能引发反应。DNA 聚合酶对于模板，对引物，对引物链的 3' 末端，对进来的脱氧核糖核苷 5'-三磷酸，以及对它的 5'→3' 核酸外切酶活性都有专一的结合位点。正如用碱基成分分析所证明，酶制造出与模板股互补的 DNA 股。最近邻碱基频率分析证明新股的极性与模板股的相反。DNA 聚合酶 I 的 3'→5' 核酸外切酶和 5'→3' 核酸外切酶活性，通过除去不配对的核苷酸的方式担负一种校对的功能。DNA 连接酶能连接两个 DNA 链的末端只要它们与互补股成双螺旋。A. Kornberg 和其共同工作者已经证实，在噬菌体 ϕX 174 具有生物活性的环状 DNA 股的实验室合成中，DNA 聚合酶 I 和 DNA 连接酶能以完全的精确性起作用。

缺少 DNA 聚合酶 I 的突变体导致了 DNA 聚合酶 II, III 和 III* 的发现。后者和蛋白质辅聚合酶 III* 一起似乎才是担任 DNA 复制的形式，而 DNA 聚合酶 I 在一种辅助的资格上和 DNA 修补上起作用。

冈崎已经发现 DNA 的两股都是以长到 2,000 个核苷酸残基的短片复制出来的，接着由 DNA 连接酶将它们连接起来。DNA 的复制要求有解链蛋白质和解扭蛋白质的参加。此外，DNA 的复制还要求 DNA 指导的 RNA 聚合酶引发，此酶产生短短的引发长度的 RNA，在这 RNA 上建造 DNA；然后切去此 RNA 引物。DNA 也可以由 RNA 指导的 DNA 聚合酶或反转录酶合成，此酶已在某些产生癌的 RNA 病毒中以及也在正常细胞中发现。单股缺口，有缺陷的碱基，和 DNA 中的胸腺嘧啶二聚体都可以酶促地被修补。

RNA 是通过 DNA 指导的 RNA 聚合酶从核糖核苷 5'-三磷酸合成的，但在体内只转录 DNA 的一股。此酶很复杂需要特殊因子来识别起步点。从单个基因可同时转录许多 RNA 链。信使 RNA 通过在 3'-末端接上一个长多聚-A 尾而得到修饰。核糖体 RNA 是从长的前身物链里产生的，长链被切断而生成完成的 rRNA。

RNA-指导的 RNA 复制酶是在感染了 RNA 病毒的细菌细胞里生成的；复制酶类对模板有专一性且只接受同系的完整的病毒 RNA 作为引物。多核苷酸磷酸化酶能从核糖核苷 5'-二磷酸移除磷酸而可逆地生成类似 RNA 的聚合体；它在引物的 3'-羟末端加上或除去单核苷酸。

参 考 文 献

书籍

- Davidson, J. N.: *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, 7th ed., Academic, New York, 1972.
- Kornberg, A.: *DNA Synthesis*, Freeman, San Francisco, 1974. A detailed, clarifying account of all aspects of DNA replication and transcription, illustrated with many helpful drawings. Indispensable.
- Lewin, B.: *Gene Expression*, vol. II, *Eukaryotic Chromosomes*, Wiley, New York, 1974. Replication and transcription of eukaryotic chromosomes.
- Stent, G. S.: *Molecular Genetics: An Introductory Narrative*, Freeman, San Francisco, 1971.
- Stewart, P. R., and D. S. Letham (eds.): *The Ribonucleic Acids*, Springer-Verlag, New York, 1973. Another extremely valuable book.
- Wood, W. B., J. H. Wilson, R. M. Benbow, and L. E. Hood: *Biochemistry: A Problems Approach*, Benjamin, Menlo Park, Calif., 1974. Short review and a number of excellent problems and ques-

tions.

Zubay, G. L., and J. Marmur (eds.): *Papers in Biochemical Genetics*, 2d ed., Holt, New York, 1973.
Reprinted Classic papers on DNA replication and transcription.

论文

- Advances in Molecular Genetics, a special issue of the *Brit. Med. Bull.*, vol. 29 (Sept. 1973), with 16 short, authoritative reviews of the present status.
- Alberts, B. and L. Frey: "T₄ Bacteriophage Gene 32: A Structural Protein in the Replication and Recombination of DNA," *Nature*, 227: 1313—1318 (1970).
- Beers, R. F., Jr., R. M. Herriott, and R. C. Tilghman (eds.): *Molecular and Cellular Repair Processes, Suppl. 7, Johns Hopkins Med. J.*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 1972. Another important collection of reviews on an area of increasing importance.
- Cleaver, J.: "Xeroderma Pigmentosum: A Human Disease in Which an Initial Stage of DNA Repair Is Defective," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 63: 428—435 (1969).
- Dressler, D.: "The Rolling Circle Model for φX174 DNA Replication; II: Synthesis of Single-Stranded Circles," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 67: 1934—1942 (1970).
- Gefter, M. L. (ed.): "DNA Synthesis in Vitro," *PAABS Rev.*, 1: 495—548 (1972). A short survey, followed by five reprinted original research papers on DNA polymerases II and III and other topics.
- Hankala, B., and O. L. Miller, Jr.: "Electron Microscopy of Genetic Activity," *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 379—396 (1973).
- Hanawalt, P. C.: "Repair of Genetic Material in Living Cells," *Endeavour*, 31: 83—87 (1972).
- Kornberg, A.: "Active Center of DNA Polymerase," *Science*, 163: 1410—1418 (1969).
- Kornberg, T., A. Lockwood, and A. Wireel: "Replication of the *E. coli* Chromosome with a Soluble Enzyme System," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 71: 3189—3193 (1974).
- Lehman, I. R.: "DNA Ligase: Structure, Mechanism, and Function," *Science*, 186: 790—797 (1974).
- Mckenna, W. G., and M. Masters: "Biochemical Evidence for the Bidirectional Replication of DNA in *E. coli*," *Nature*, 240: 536—539 (1972).
- Miller, O. L., Jr.: "The Visualization of Genes in Action," *Sci. Am.*, March 1973, pp. 34—42.
- Molecular Biology Comes of Age, *Nature*, 248: 765—788 (Apr. 26, 1974). A series of interesting essays, some by participants in the development of molecular biology, in a special issue devoted to the twenty-first anniversary of the Watson-Crick hypothesis.
- Morgan, R. (ed.): "DNA Replication in Bacteria and Bacteriophages," *PAABS Rev.*, 2: 323—386 (1973).
- Salser, W. A.: "DNA Sequencing Techniques," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 923—966 (1974).
- Schekman, R., A. Weiner, and A. Kornberg: "Multienzyme Systems of DNA Replication," *Science*, 186: 987—993 (1974). Identification of the components of systems replicating the DNA of small DNA phages of *E. coli*.
- Sobell, H. M.: "How Actinomycin Binds to DNA," *Sci. Am.*, August 1974, pp. 82—91.
- Sugino, A., S. Hirose, and R. Okazaki: "RNA-linked Nascent DNA Fragments in *E. coli*," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 69: 1863—1867 (1972).
- Weissbach, A. (ed.): "RNA-Dependent DNA Polymerases in Animal Cells: A Question," *PAABS Rev.*, 3: 167—208 (1974). A short survey of the field, followed by six reprinted research articles, important in this field, including papers of H. M. Temin and D. Baltimore.

习题

1. 在大肠杆菌细胞菌落加倍的时间为 30 分钟的条件下, (a) 假如任何一个时间内有两个酶分子在起作用, 体内 DNA 聚合酶的转换数(每秒中核苷酸聚合数)如何? (b) 这与纯 Pol I 的转换数比较又如何?
2. 在大肠杆菌细胞分裂过程中复制核糖核酸酶(104 残基)基因要多少时间, 试计算之。用第 1 题中的数据。
3. 由 DNA 聚合酶复制 DNA 的单个(+)股(碱基成分: A, 21%; G, 29%; C, 29%; T, 21%)以产生一个互补的(-)股。后来由 RNA 聚合酶利用生成的双螺旋 DNA 作模板,

此酶转录(一)股。指明所生成的 RNA 的碱基成分。

4. 由环状 ϕ X 174 DNAs (+) 和 (-) 单股的等克分子混合物提供模板, 若 (-) 股的碱基成分为 A, 24.6%; G, 24.1%; C, 18.5%; T, 32.7%, 指明所合成的 DNA 的碱基成分。

5. 忽略不计 RNA 引发的代价, (a) 在复制整个大肠杆菌基因组的过程中, 假定从 ATP 和脱氧核糖核酸 5'-磷酸的混合物开始, 问用掉多少个 ATP 分子? (b) 为提供这么多能量, 将须要在有氧条件下降解多少分子的葡萄糖? (c) 在无氧条件下又要多少?

6. 一个生长迅速的大肠杆菌细胞含有约 15,000 核糖体。(a) 假定前身物 rRNA 基因总数核苷酸 5,000 对, 若从 ATP 和核糖核苷 5'-磷酸开始, 问 rRNA 的转录过程中消耗了多少 ATP 分子? (b) 这与复制消耗的能量相比又如何?

7. 你将怎样确定一短节双螺旋 DNA 的两链是平行的或是反向平行的? 一股的碱基顺序(5'→3' 方向)为 pApTpCpGpGpTpCpApApCpCpTpGpTpApGpG。

8.(a) 能引起 DNA 变性的碱性蔗糖密度梯度沉降法, 可用以从环状 DNA 区别出线状的, 也能测定 DNA 碎片的相对大小。 ϕ X 174 DNA 的复制形 II(RFII)是在一股上有缺口的双股环。在将 RFII DNA 放到碱性蔗糖中沉降时, 应该能区别分子的什么类型和长度?

(b) ϕ X 174 DNA 在体内的复制是一个涉及三个分开阶段的复杂过程。复制第 2 阶段涉及如图 32-4 中显示的滚环机制。当复制进行到如图 32-4 中第三个画图中所标明的点上以后, 碱性蔗糖沉降能区分 DNA 分子的那种类型和长度?

(c) (b) 的单位长度分子的分析表明它们具有 (-) 股 ϕ X 174 DNA 的碱基成分。假如让复制进行下去, (b) 中回收的哪些碎片最终会变成 (+)股?

(d) (b) 中哪些碎片会变成 (-)股?

(e) 当向正在复制的 ϕ X 174 DNA 加进氟化胸腺嘧啶的短期脉冲时, 假如像 (b) 中那样停止复制且沉降 DNA, 哪些碎片将不受标记?

(f) 当复制在低温下进行, 而且 DNA 在受到标记的胸腺嘧啶的简短脉冲暴露后即刻被抽提, 在碱性蔗糖沉降时发现与 (-) 股互补有放射性标记的序列只存在于比单位长度大的分子里。虽然与 (+) 股所有节段互补的标记序列已分离出, 但它们从来没有在长度比 2,000 核苷酸更大的碎片中发现过 (ϕ X 174 DNA 的总长度为 5,400 核苷酸)。解释这一资料。

[任邦哲译]

第三十三章 翻译:蛋白质的生物合成

现在,我们来考虑关于活机体遗传连续性所提出的第三个主要问题。信使 RNA 的核苷酸顺序中所包含的遗传信息是怎样翻译到蛋白质结构中去的?本章我们将讨论构成多肽链的机制,以及核糖体使遗传信息可能转移到多肽链中的氨基酸的适当顺序中去的机理。以后几章则将讨论翻译过程的其它原理,即氨基酸密码三联体的鉴别,蛋白质合成的调节,以及如何由一维遗传信息装配成三维生物结构。

关于蛋白质分子中肽键形成的酶促机制,长期以来吸引生物化学家们的注意。一个早期的观点认为肽酶和蛋白水解酶的功用不仅在于使蛋白质断裂,还能通过其水解活性的逆过程而合成蛋白质。然而,由于发现了 ATP 在生物合成反应中所起的主要作用,以及生物合成反应和分解代谢反应具有不同的途径,因此,水解活性的逆过程看来不像是蛋白质合成的机制。的确,对那些被看作是蛋白质合成模式反应或原型反应所进行的早期研究,例如,从谷氨酰胺合成谷氨酰胺和从组分氨基酸形成谷胱甘肽,表明在形成酰胺键或肽键时都需要 ATP 作为能的供体。同样地,关于多肽链是如何建造的并没有资料可利用。一个早期观点提出,是先构成短肽,然后再装配成多肽链的。

直到应用同位素示踪技术后,才在蛋白质生物合成研究方面有了第一个重大的进展。在整体动物或完整细胞采用放射性氨基酸进行研究,不久即证明:动物组织的蛋白质正在进行着代谢更新,蛋白质合成需要代谢能源,以及蛋白质的直接前体是氨基酸,而不是短肽。

关于蛋白质生物合成机制的现代研究,始于五十年代初 P. C. Zamecnik 及其共同工作者们在波士顿的重要研究。他们首先使用无细胞系统研究蛋白质合成,鉴定核糖核蛋白颗粒,即核糖体,是蛋白质生物合成的部位,并且发现了转移核糖核酸(tRNA)。

核糖体是蛋白质合成的部位

Zamecnik 及其共同工作者将放射性氨基酸注入大鼠体内。每隔一定的时间间隔取肝脏制成匀浆,用差离心法进行分级分离。然后检查细胞内各部分中有无标记氨基酸掺入到蛋白质中去。若从注射到分级分离肝脏所经过的时间长达数小时或数天,则细胞内所有成分中都含有标记蛋白质。然而,如果在注射标记氨基酸后很短的时间内便取肝脏进行分级分离,则只有微粒体部分含有标记的蛋白质。从这些研究得到结论认为,蛋白质首先在含于微粒体部分的细胞内结构中合成,然后,新合成的蛋白质再从这些结构转移到其它细胞成分中去。Zamecnik 及其共同工作者不久发现,将新鲜制备的大白鼠肝脏的无细胞匀浆与标记氨基酸一起保温,结果也有放射性掺入微粒体蛋白质。氨基酸的掺入需要加 ATP 和呼吸底物以提供能量。由此证明蛋白质合成无需完整的细胞结构。

将肝匀浆分级分离成细胞核、线粒体、微粒体和可溶部分,并且试验这些部分按各种组合时引起标记氨基酸掺入蛋白质的能力。微粒体部分和可溶部分(或细胞溶质)两部分

的组合是氨基酸掺入所必需的。微粒体部分是作为新掺入的氨基酸的受体，而可溶部分则提供主要的辅助因子。在这类重建实验中，其所以需要线粒体，仅仅由于线粒体能以 ATP 形式提供能量。

若将标记微粒体部分进一步分级分离，可在核糖核蛋白小颗粒中大量回收到所掺入的放射性。A. Claude 很早就用电子显微镜在细胞质中看到了这种颗粒，后来，K. R. Porter 和 G. E. Palade 又在内质网表面观察到这种颗粒，但其功能仍然不知道。这些核糖核蛋白颗粒，以后称之为核糖体，可以用去垢剂处理而使它们脱离内质网，并且用差离心法将它们以均一的形式分离出来。用这种方法制纯的核糖体在与大鼠肝的可溶性或细胞溶质部分以及 ATP、Mg⁺⁺一起保温时，可使放射性氨基酸掺入肽键。不久，其他研究者们也观察到氨基酸可以掺入许多其它细胞的核糖体中，尤其是从网织红细胞和大肠杆菌来的核糖体中。网织红细胞是在血红蛋白合成中极其活跃的未成熟红细胞。

蛋白质生物合成的必需辅助因子和各个阶段

Zamecnik 及其共同工作者们发现肝脏的可溶部分为蛋白质的合成提供两类必需因子。一类是热不稳定的，其性质大概是蛋白质；另一类是热稳定的。肝脏细胞质内热不稳定的可溶因子之一是一种酶，它催化依赖于 ATP 的激活反应，此反应使游离氨基酸被酯化成也存在于可溶部分中的一种热稳定成分。热稳定的氨基酸受体是一种低分子量型的核糖核酸，起初叫做“可溶性核糖核酸”或 sRNA，现在称为转移核糖核酸 (tRNA)，以更确切地表示其功能。然后，激活反应中如此生成的氨酰-tRNA 再同核蛋白体结合。这里，核蛋白体是作为接着发生的肽链延长反应中氨酰残基的供体。

随后的研究揭示，多肽链的合成有四个主要阶段，每个阶段都需要专一的酶和辅助因子。表 33-1 为以后详细讨论提供一些方向。第一阶段称为激活作用阶段，全部在可溶性细胞质内进行，在消耗 ATP 能量的情形下，氨基酸同与之相应的 tRNA 进行酶促酯化。第二阶段称为起始阶段，带有专一的氨基酸顺序遗传信息的信使 RNA，和第一个或起始氨酰-tRNA，同核糖体的小亚基结合，此过程需要三种叫做起始因子的专一蛋白质 (IF-1, IF-2, IF-3) 以及 GTP 和 Mg⁺⁺。然后，核糖体的大亚基附于其上形成有功能的核糖体，为下一阶段做好准备。

第三阶段称为延长阶段，从氨酰-

表 33-1 大肠杆菌蛋白质合成中四个主要阶段所需要的成分

阶段	必需成分
1. 氨基酸的激活	氨基酸 tRNA 氨酰-tRNA合成酶 ATP Mg ⁺⁺
2. 多肽链的起始	在原核生物中为 fMet-tRNA (在真核生物中为 Met-tRNA) mRNA 上的起始密码子 (AUG) mRNA GTP Mg ⁺⁺ 起始因子 (IF-1, IF-2, IF-3) 30S 核糖体亚基 50S 亚基 功能性 70S 核糖体 由密码子特定的氨酰-tRNA Mg ⁺⁺ 延长因子 (EF-T, EF-G) GTP
3. 延长	功能性 70S 核糖体 由密码子特定的氨酰-tRNA Mg ⁺⁺ 延长因子 (EF-T, EF-G) GTP
4. 终止	功能性 70S 核糖体 mRNA 中的终止密码子 多肽释放因子 (R ₁ , R ₂ , R ₃)

tRNA 酯酶促转移来的新的氨酰残基依次加上去而使多肽链延长；每个氨酰-tRNA 酯是按照 mRNA 上专一的密码子或碱基三联体而与核糖体相结合的。肽链延长还需要两个延长因子，EF-T 和 EF-G，它们也是蛋白质。每个新的肽键形成后，核糖体沿着 mRNA 移动，使次一密码子就位，以按顺序接受下一个氨酰-tRNA，此过程需要有 GTP 形式的供能。

蛋白质合成的最后阶段是终止阶段，当 mRNA 上恰当的终止信号到达时，多肽链已完成；于是，产物从核糖体上释放，此过程需要叫做释放因子的专一蛋白质。

多肽合成时肽链增长的方向和速率

在我们进一步讨论蛋白质合成各阶段之前，必须考虑多肽链增长的方向，它是从氨基末端残基还是从羧基末端残基开始建造的。由于氨基酸是一种不对称的建造材料，具有“头”- α -氨基，和“尾”- α -羧基，为了提出一个在化学上合理的工作假设，这方面的资料是重要的。H. M. Dintzis 的实验对这个基本问题作出了回答。将氚标记的亮氨酸加到正在活跃地合成血红蛋白 α 链和 β 链的网织红细胞的悬浮液内；血红蛋白含有许多亮氨酸残基，而且其氨基酸顺序是已知的。在低温（15°C）下保温以减慢蛋白质合成率。在 4 到 60 分钟之内，按不同的时间间隔取网织红细胞样品。将网织红细胞所制造的标记血红蛋白分离出来，将 α 链和 β 链分开，并用胰蛋白酶裂解成肽片段。生成的肽片段再用纸电泳法进行分离。测定每一含亮氨酸的胰蛋白酶解肽的比放射性。由于这些肽在血红蛋白链中的位置是已知的，所以有可能推断多肽链从那一端开始建造的（图 33-1）。看到与 ^3H -亮氨酸保温 4 分钟后，只有位于多肽链羧基末端的含亮氨酸的肽被标记了。随着暴露于 ^3H -亮氨酸时间的延长，被标记肽的数目也就增加，而所有这些肽都集中在羧基末端。在和标记亮氨酸保温 60 分钟后所回收的样品中，所有经胰蛋白酶酶解的肽的亮氨酸残基都受到同等程度的标记；这表明多肽链的全长是在 60 分钟内构成的。显然，在 4 分钟间隔

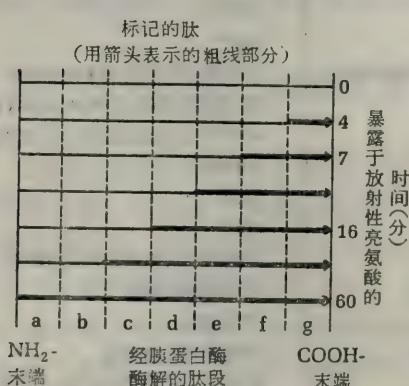


图 33-1 向血红蛋白 α 链的羧基末端加接标记的亮氨酸残基。带箭头的区带表示在 15°C 下将网织红细胞暴露于 ^3H -亮氨酸一定时间后，标记亮氨酸残基在肽链上的位置。暴露 4 分钟后，只有位于羧基末端的少数亮氨酸残基受标记，因为在加入标记亮氨酸时，这些肽链已经近乎构成。

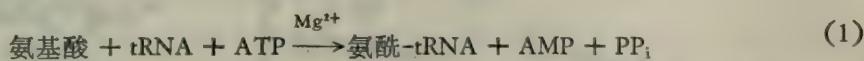
时便受到同位素标记的血红蛋白链，在加入同位素亮氨酸时便已接近完成。因此，在核糖体上的肽链被构成及被释放出来之前，只有少数标记的亮氨酸残基能够加到这种链的末端上去。相反地，在那些当加入同位素亮氨酸时还只刚开始建造的肽链中，除位于氨基末端的肽以外，全部含亮氨酸肽都受到标记。从而认为，多肽链是从氨基末端的氨基酸开始建造的，这些氨基酸的羧基则与进入的氨基酸的氨基相结合。依次接续加接残基至增长中的多肽的游离羧基末端上，一直继续到肽链完成为止。这个结论已经在原核生物和真核生物中所做的其它类型的实验充分证实。

这些实验的一个有趣推论是，它们为合成一条完整多肽链所需的时间提供了精确的信息。在 37°C 下，家兔的完整网织红细胞内单个核糖体能

在大约 3 分钟内就建成一条完整的血红蛋白 α 链(含 146 个残基), 合成速率比每秒钟少于一个残基。在适宜培养基中生长的大肠杆菌和其它细菌, 每个功能性核糖体, 每秒钟约能插入 20 个氨基酸。

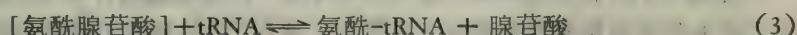
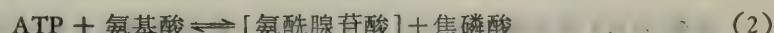
氨基酸激活反应及其氨基酸的专一性

在蛋白质合成的第一阶段(在细胞溶质内进行), 作为蛋白质建造基块的 20 种不同的氨基酸, 在一类所谓氨基酸激活酶类, 或更专一性地称之为氨酰-tRNA 合成酶的作用下, 各与其相应的 tRNA 进行酯化。每一种这种酶高度专一地使一种氨基酸与其相应的 tRNA 发生反应。所催化的反应如下:



作用于 20 种不同氨基酸的激活酶几乎全部都已高度提纯, 尤其是得自大肠杆菌的, 有些已制成立晶。这些酶分子量的范围为 100,000 至 240,000。有的只是分子量为 100,000 的单条多肽链(例如, 亮氨酸的激活酶), 有的具有 2 个以上相同的亚基, 有的具有不相同的亚基。甘氨酰-tRNA 合成酶有两个分子量为 35,000 的亚基和两个分子量为 82,000 的亚基。它们都绝对需要 Mg^{2+} , 都含有一个或一个以上对活性是必需的巯基。

在激活反应中, ATP 进行焦磷酸裂解生成 AMP 和焦磷酸, 这与脂肪酸的激活反应相类似。氨基酸转移到它的 tRNA 上, 是在酶的催化位点上分两步进行的。第一步, ATP 和氨基酸起作用, 置换出焦磷酸, 生成与酶结合的中间体氨酰腺苷酸(图 33-2)。在此中间体中, 氨基酸的羧基与 AMP 的 5'-磷酸基以酸酐键相连结; 高能的酐键激活了氨基酸的羧基。第二步, 氨酰基由 AMP 转移到其 tRNA 的 3' 末端, 随后释放出产物氨酰-tRNA 和腺苷酸。这两步反应为:



如图 33-3 所示, 氨酰基由其活化羧基与带有末端 C-C-A 顺序的 tRNA 分子的 3'-末端上的终端 AMP 残基的游离 2'-羟基进行作用就得以酯化。形成 tRNA 序列末端 2'-和 3'-羟基的氨酰酯的一种平衡混合物。

应注意, 整个激活反应进行时标准自由能的降低是相对地小的。由于 tRNA 是在水解消耗 ATP 高能键的条件下形成的, 因而在氨基酸和 tRNA 之间形成的新酯键是一种高能键。由于激活反应中形成的无机焦磷酸接着又被焦磷酸酶水解为正磷酸, 所以, 每激活 1 分子氨基酸就有 2 个高能磷酸键最终被裂解。细胞内氨基酸激活的总反应实质上是不可逆的。通常用测量 ^{32}P -标记焦磷酸掺入在两步反应的第一步 [反应 (2)] 中所加入的 ATP 中的速率来测定活化酶。这一完全可逆的交换反应需要专一的氨基酸底物的存在, 但并不需要其相应的 tRNA。

氨酰-tRNA 合成酶对氨基酸和相应的 tRNA 二者都有很高的专一性。这点是极端重要的, 因为一旦氨酰-tRNA 形成, 便只能从其 tRNA 部分中的反密码子三联体来识别它, 而不能从氨基酸残基来识别, 这一点以后会谈到的。因此, 氨酰-tRNA 合成酶必须具有两个非常专一的结合位点, 一个是对氨基酸底物的, 另一个是对相应的 tRNA 的; 还必须有

结合 ATP 的第三个位点。氨酰-tRNA 合成酶判别天然氨基酸类的专一性是如此之高，以致在细胞内条件下发生误差的机会小于万分之一。但是，这类酶可能受骗而接受某些代替其正常底物的非生物的氨基酸类似物。其中有苯丙氨酸的类似物对-氟苯丙氨酸，以及蛋氨酸的类似物乙硫氨酸和正亮氨酸(图 33-4)。若将这些类似物喂饲动物，它们就在正常苯丙氨酸或蛋氨酸所占据的位置上分别掺入蛋白质。

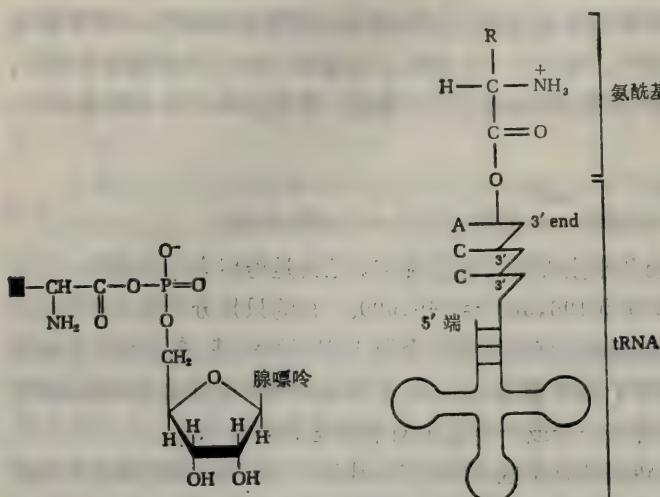


图 33-2 在氨酰-tRNA合成酶活性位点上形成的氨酰腺苷酸的一般结构。也可参见详述 tRNA 结构的图 33-5。

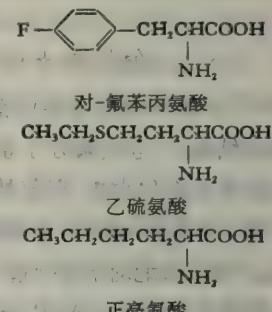


图 33-4 合成的氨基酸类似物。它们能够在相应的天然氨基酸所在位置掺入进多肽链中去。

tRNA 的结构和激活酶的专一性

氨酰-tRNA 合成酶对其相应 tRNA 的专一性是复杂而有趣的问题，首先要回顾 tRNA 分子的共价结构和核苷酸成分（见第十二章）。已经知道了超过 50 种 tRNA 的完全碱基顺序，对于它们的构型，他们的专一性以及他们结构中不同部分的功能，都有重要的资料可利用。

现已确切证明，tRNA 分子由 73 至 93 个核苷酸残基构成，分子量约 25,000，具有一种专一的三维构型。当加热时，在 260 毫微米处显示很强的增色效应，这提示大概由于单股 tRNA 链的成圈状，以致许多碱基配对成对。事实上，约 60—70% 的 tRNA 结构呈双螺旋型。tRNA 经加热溶化后，在冷却时能迅速恢复其天然构型。此外曾证明 tRNA 分子的天然构型对其生物活性是必需的，未折叠的 tRNA 不具有氨基酸受体的作用。根据 tRNA 的碱基顺序，有可能组建若干构型，使链内碱基配对。惊奇的发现是，虽然各种不同氨基酸的 tRNA 具有十分不同的碱基组成，但若把链排列成链内碱基最大配对数的形式（图 33-5），那么，所有 tRNA 都可画成具有相同的四臂三叶草形排列的二维图。某些长链 tRNA 能够形成一条短的第 5 臂。已经获得几种 tRNA 的晶体。酵母苯丙氨酸 tRNA 晶体的 X 射线分析表明，它的分子不对称地折叠形成约 9.0 毫微米长、2.5 毫微米厚的一种致密结构；其一端是反密码子臂，另一端是氨基酸臂。（图 33-6）

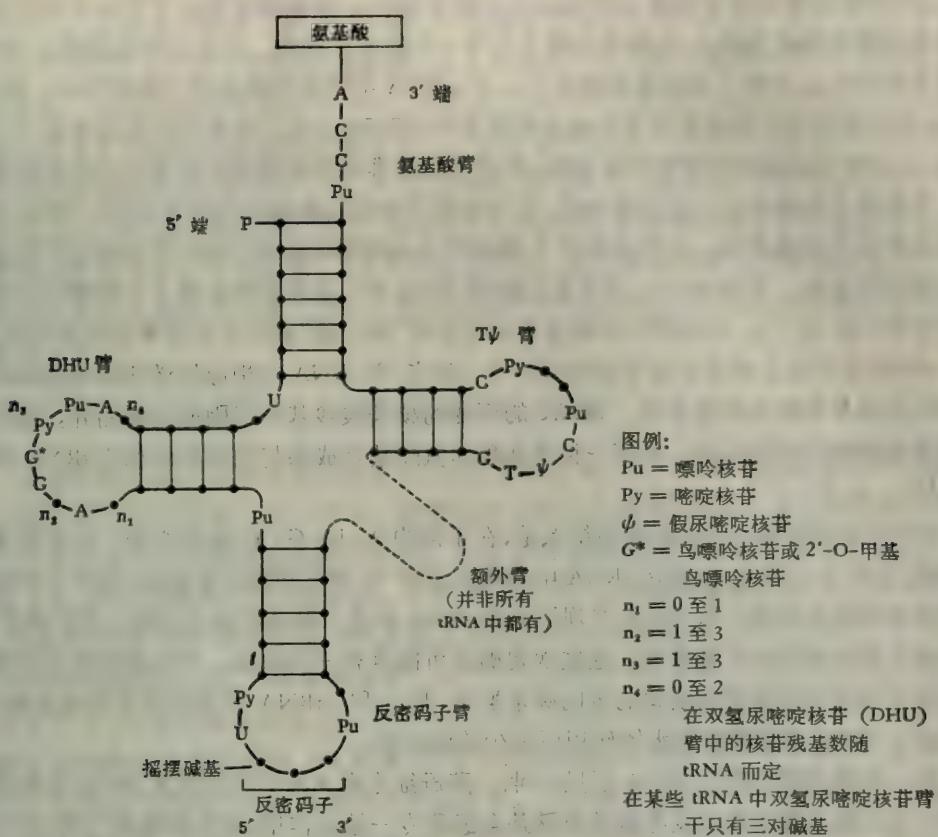


图 33-5 tRNA 的一般三叶草形结构。在骨架上的大黑点是核苷酸残基，横线代表碱基对。

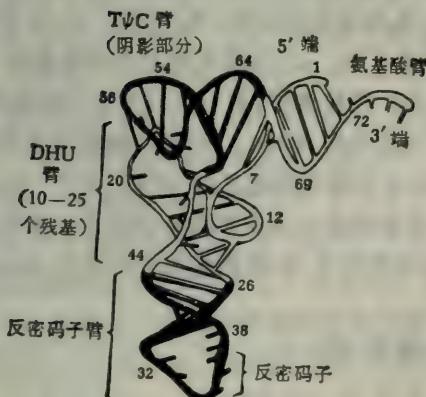


图 33-6 X 射线衍射分析法(0.3 毫微米分辨率)推断酵母苯丙氨酸 tRNA 的三维构型。[引自 S. H. Kim and colleagues, *Science*, 185: 436 (1974)]

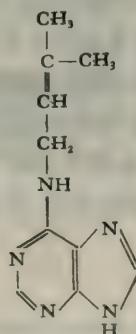


图 33-7 三刺碱[6-(3-甲基丁-2-烯基氨基)嘌呤]是在反密码子旁发现的次要嘌呤之一。这种化合物是一种细胞分裂素类，是促进细胞分裂的植物激素。

从碱基顺序数据，已经鉴定了 tRNA 一些生物学上重要的结构特征(图 33-5)。所有 tRNA 分子在其氨基酸臂的 3' 端都有相同的末端顺序 Pu-C-C-A。最末的腺苷酸残基是在氨酰基合成酶作用下与氨酰基发生酯化作用的位点(图 33-5)。一个假尿嘧啶核苷残基

(d) 总是特征性地存在于所有 tRNA 的 T_ψC 臂中；同样，双氢尿嘧啶核苷臂的特征则有一个双氢尿嘧啶核苷残基。反密码子臂含有专一的核苷三联体，这在各种氨基酸的 tRNA 中是不相同的。这种三联体是反密码子，与 mRNA 中相应的密码子三联体互补。氨酰-tRNA 的反密码子三联体有适当的碱基顺序来和 mRNA 上相应密码子的碱基形成专一的氢键。以这种方式选择所需要的氨基酸，并使它位置准确地转移到正在增长中的多肽链上去。反密码子的碱基之一是摇摆碱基，它与密码子中相应碱基起作用时，其专一性比另外两种反密码子碱基要低。与反密码子 5' 端相邻的是尿嘧啶残基，而与 3' 端相邻的则是嘌呤或嘌呤衍生物。某些 tRNA，尤其是在植物 tRNA 中，在较后的位置上发现嘌呤的异戊烯衍生物（图 33-7）。这些特征性碱基显然是作为“制止物”来划分反密码子的界限的。

tRNA 分子还必须至少含有另外两个专一位点，即 tRNA 与相应的激活酶相结合的酶识别位点以及核糖体附着位点。tRNA 的可变的核苷酸残基不仅因氨基酸而异，而且也因器官或物种的不同而异；任何一种氨基酸的氨酰基合成酶与同物种的相应 tRNA 作用得最好。

tRNA 分子结构中引人注意的特点是，在正常的 A、U、G、C 碱基之外，还有许多次要碱基（见第十二章）。已经在 tRNA 中发现了至少 40 种不同的次要核苷，其中大多数是正常核苷的甲基化型。E. Borek 发现了催化 tRNA 中专一碱基甲基化的酶；它们需要 S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体。这些次要碱基可能具有一些功能。它们或可阻止在某些点上为了生成特殊的臂状结构的链内碱基配对，阻止和 mRNA 形成不应有的碱基配对，还可赋予 tRNA 对核酸酶的水解作用以较少的敏感性。

每一种氨基酸的专一 tRNA 不只一种。酵母细胞有 5 种不同的同系 tRNA 或称同功 tRNA，它们能与亮氨酸以及亮氨酸氨酰基合成酶专一地起作用；对丝氨酸有 5 种、对甘氨酸有 4 种、对赖氨酸有 4 种。但是，一种已知的氨酰基 tRNA 合成酶不能对所有同系 tRNA 发生同等的反应。再者，在某些细胞内，作用于某些氨基酸的氨酰基-tRNA 合成酶也不只是一种，而这些氨基酸对同系 tRNA 的相对专一性却是有差别的。关于同系 tRNA 和氨酰基-tRNA 合成酶的多样性的生物学基础尚未充分了解。已发现粗糙链孢菌细胞至少含有两类对许多氨基酸有作用的 tRNA。一类只存在于线粒体中，另一类只存在于细胞质中，这提示线粒体和细胞质的蛋白质合成使用了不同类型的 tRNA。而且，线粒体内的合成酶对线粒体型的 tRNA 是专一的，而细胞质内的合成酶对细胞质的 tRNA 是专一的。然而，细胞内的位置并非唯一需要考虑的事，因为原核细胞也含有多种种类作用于某些氨基酸的 tRNA；总的说来，大肠杆菌细胞约含有 80 种作用于 20 种氨基酸的不同的 tRNA。

tRNA 的连接作用

一旦氨基酸与其相应的 tRNA 酯化后，它对于氨酰基-tRNA 的专一性便无贡献了，因为这样的氨酰基不能被核糖体或 mRNA 模板所识别。这一点在使一个氨酰基-tRNA 的氨基酸残基起化学修饰的巧妙实验中已经被确证无疑。例如，半胱氨酸激活酶作用于放射性半胱氨酸、ATP 和 tRNA_{cys}，首先形成同位素标记的半胱氨酸-tRNA_{cys}。然后，后者可用氢和催化剂使半胱氨酸残基还原，而在化学上转化成丙氨酸-tRNA_{cys}，这一步骤并不引起 tRNA 分子本身的任何化学改变。这种杂种氨酰基-tRNA 含有为半胱氨酸的反密码子，

但实际上却运载着丙氨酸，而后把它同取自网织红细胞的核糖体系统一起保温，该系统中含有全部其它的 tRNA、氨基酸、激活酶，以及合成血红蛋白链所需的 mRNA。检查新合成的多肽链，以测定杂种丙氨酸-tRNA_{cys} 是否把它的异常丙氨酸残基转移到血红蛋白链上那些正常为半胱氨酸所占据的位置上去了。回答是肯定的：有相当大量的标记丙氨酸掺入了半胱氨酸的位置。此实验为 F. H. C. Crick 和 M. B. Hoagland 首先提出的假设提供了证据，即认为：tRNA 是一个分子“连接物”(adapter)，能使插在它上面的氨基酸适应于遗传密码的核苷酸三联体语言。这个实验还证明，激活酶必须对它的氨基酸和 tRNA 二者都具有极端高度的专一性，因为在激活反应中所引起的任何误差在多肽链形成时都不可能再改正了。

核糖体的结构

在我们详述蛋白质合成的起始阶段之前，有必要复习一下核糖体的复杂结构（见第三十六章），因为在核糖体上有一种专一的结合位点的空间排列，而且在多肽链建造时，在所结合的组分之间有一组复杂的相互作用。对大肠杆菌和其它原核细胞的 70S 核糖体研究得最充分，其颗粒重约 2.7 兆道尔顿。在特殊条件下，这些核糖体解离为 50S 和 30S 的亚基，各含有 RNA 和许多蛋白质。50S 亚基含有两种 RNA 成分，即 23S RNA 和 5S RNA，以及 34 种不同的蛋白质。30S 亚基含有 1 分子 16S 核糖体 RNA 和 21 种不同的蛋白质。在正常条件下，核糖体蛋白质在 pH7.0 时不溶于水，但能用浓盐溶液选择性地连续地提取。用氯化铯浓溶液温和地提取 30S 亚基，除去几种核糖体蛋白质，剩下一个稳定的内核，内核里的其它蛋白质则可用较为剧烈的方法提取。从 30S 亚基和 50S 亚基提取的许多不同蛋白质于是能够在 pH4.5 时用凝胶电泳方法分离。后面将会见到（见第三十六章），核糖体可由其组成 RNA 和蛋白质再装配起来。

真核生物细胞质中的核糖体比原核生物细胞质中的核糖体大得多，它们的沉降系数为 73S 至 80S，直径约 22 毫微米，颗粒重约 4.0 兆道尔顿。其亚基的沉降系数约为 60S 和 40S。然而，亚基的大小在植物和动物之间稍有不同，RNA 的大小也如此。植物核糖体含有 25S 和 16S 或 18S 的 rRNA，而动物的核糖体含有 28S 和 18S 的 rRNA。动物核糖体的 28S rRNA 在不同物种中大小也有些不同，这取决于它们系统发育所处的地位，分子量范围由海胆的 140 万到哺乳类的 175 万。

虽然至少有一些核糖体蛋白质具有催化功能，但核糖体 RNA 的专一功能仍然不清楚，尽管它具有能与许多核糖体蛋白质结合的位点。看来，rRNA 和各种类型蛋白质簇集形成 70S 核糖体的 30S 和 50S 亚基，很可能参加使附有增长着的多肽链的核糖体沿着 mRNA 移动的构型变化。因此，核糖体可能是机械化学体系，被认为与肌肉的肌动球蛋白和真核生物鞭毛的微管属于同一类的生物结构。

图 33-8 是核糖体结构的示意图，概要表示 50S 亚基上的肽酰基位点和氨酰基位点。

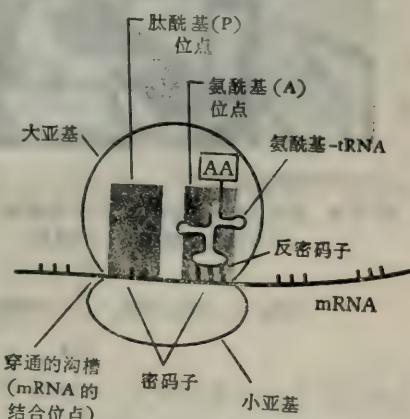


图 33-8 大肠杆菌核糖体的示意图，表示与肽酰基-tRNA、氨酰基-tRNA 以及 mRNA 的主要结合位点。还有其它和起始因子、延长因子及释放因子结合的位点。

mRNA 大概穿过大、小亚基之间的沟槽循轨而行。图中密码子的大小比例并不合适，在沟槽中约隐藏着 8 个密码子。

多肽链的起始

在大肠杆菌和所有其它原核生物中，全部蛋白质的合成都是从由起始密码子 AUG 来编码的蛋氨酸开始的。起始蛋氨酸残基并不是以蛋氨酰-tRNA 而是以 N-甲酰蛋氨酰-tRNA (fMet-tRNA) (图 33-9)的形式参与反应的，后者是酶促转甲酰作用的产物，其中的甲酰基是



图 33-9 原核生物的起始氨基酸，N-甲酰蛋氨酸。图示 N-甲酰蛋氨酰-tRNA 的晶体。

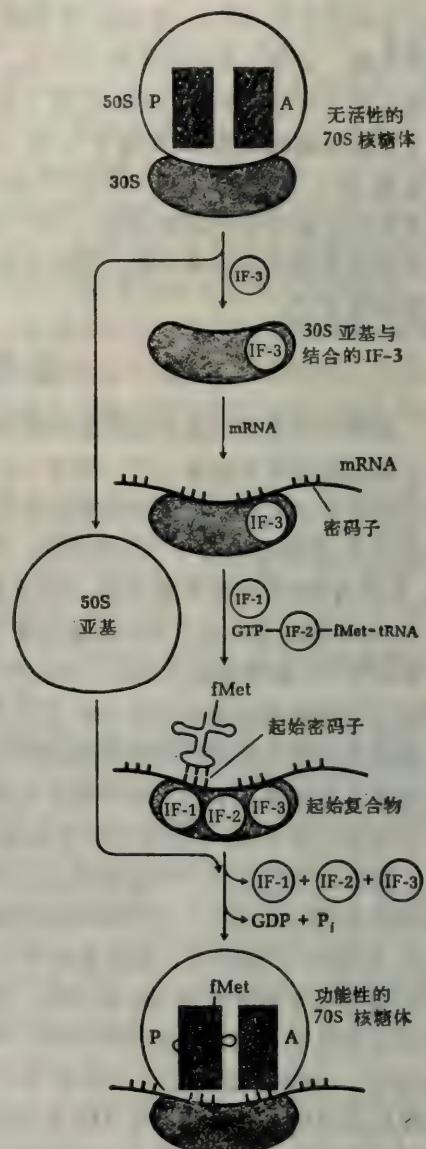
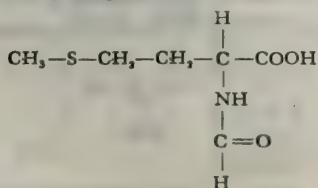
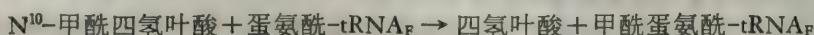


图 33-10 起始复合物和功能性的 70S 核糖体的形成 (大肠杆菌) IF-1, IF-2, IF-3 是起始因子。50S 核糖体和起始复合物结合引起起始因子的释放和 GTP 的水解。

从 N^{10} -甲酰四氢叶酸转移到蛋氨酰-tRNA 的 α -氨基上去的。有两种蛋氨酰-tRNA_{Met}，只有一种，称为蛋氨酰-tRNA_F是能够接受 N -甲酰基的。反应式为：



催化此反应的酶不能使游离蛋氨酸甲酰化，也不能使附着于另一种 tRNA_{Met} 的蛋氨酸残基甲酰化。现在看来，似乎 fMet-tRNA_F 不仅在细菌内，而且也在真核细胞的线粒体内使肽链合成起步。已经得到 fMet-tRNA 的晶体(图 33-9)。已经发现真核细胞细胞质内蛋

蛋白质合成的起始氨基酸残基是和一种称为起始区 tRNA 的专一 tRNA_{Met} 起酯化的一种未酰化的蛋氨酸残基。

当合成蛋白质时,70S 核糖体不断地解离为其 50S 亚基和 30S 亚基,两亚基又不断地再缩合成完整的核糖体。R. Kaempfer 及其同工作者们首先证明了这一事实,他们在培养基中培养了几代大肠杆菌细胞,培养基中碳、氮、氢的来源中含有非常丰富的重的同位素¹³C、¹⁵N 和 ³H。由这些“重的”细胞合成的核糖体的密度大于在正常碳、氢、氮来源下生长的细胞所合成的核糖体。然后将重的大肠杆菌培育在含有正常碳、氢、氮来源的新鲜培养基中。从这样的细胞分离出的核糖体经密度梯度离心时,发现它包含两类杂种。一类含有重的 50S 和轻的 30S 亚基,另一类含有轻的 50S 和重的 30S 亚基。由这些杂种的形成速率就得出结论,70S 核糖体经常离解成亚基,而亚基又不断地再结合。当 M. Nomura 及其共同工作者们发现在多肽链合成能够开始之前 70S 核糖体必需先解离成 50S 亚基和 30S 亚基这一事实后关于解离-再结合过程的意义便清楚了;mRNA 和起始氨酰基-tRNA 不能直接结合到 70S 核糖体上去,而是先与 30S 亚基结合,然后,后者再同 50S 亚基结合。但是随后的许多实验研究表明,这是一个相当复杂的多步骤过程(图 33-10),需要三种叫做起始因子(IF-1, IF-2, IF-3)的专一蛋白质参加。这些蛋白质可以用强盐溶液从核糖体中提取成可溶形式;它们的分子量各约为 9,000、65,000 和 21,000。起始因子并不是 30S 亚基的永久性组分,以后我们将看到,它们经受着附着和释放的循环。

尽管有些细节还不甚肯定,但形成完整的功能性 70S 核糖体的步骤顺序如下。30S 亚基首先与 IF-3 形成一个复合物,该复合物再与 mRNA 结合,1 分子 IF-1 加于此复合物上。然后, fMet-tRNA 和 GTP 与 IF-2 结合,所形成的复合物同由 30S 亚基、IF-3、mRNA 和 IF-1 所形成的复合物相结合,生成所谓的起始复合物(图 33-10)。起始复合物然后与 50S 亚基结合形成完整的功能性 70S 核糖体;在此过程中,GTP 被水解为 GDP 和 P_i,三个起始因子 IF-1、IF-2、IF-3 则从核糖体解离。

据推测,需要有这样精细的起始过程来保证起始氨酰基-tRNA 结合在肽酰位点上,并处于起始密码子 AUG 的位置上;这样,核糖体才能在 mRNA 上的正确地点开始翻译。起始因子可反复用于起步新链。

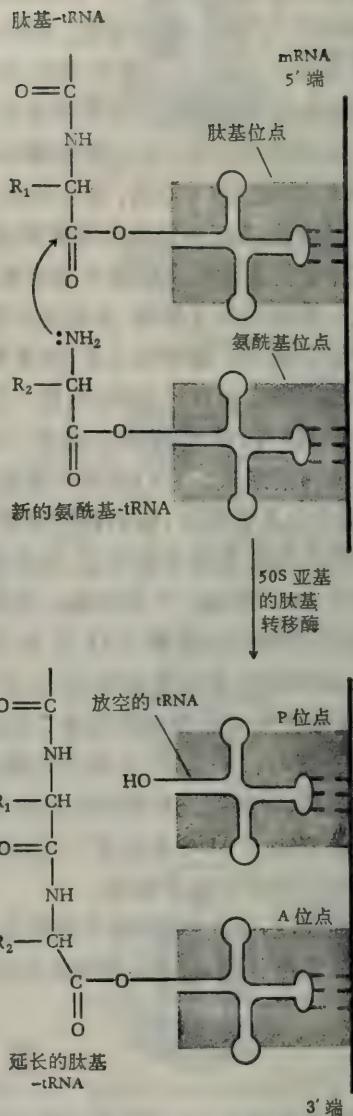
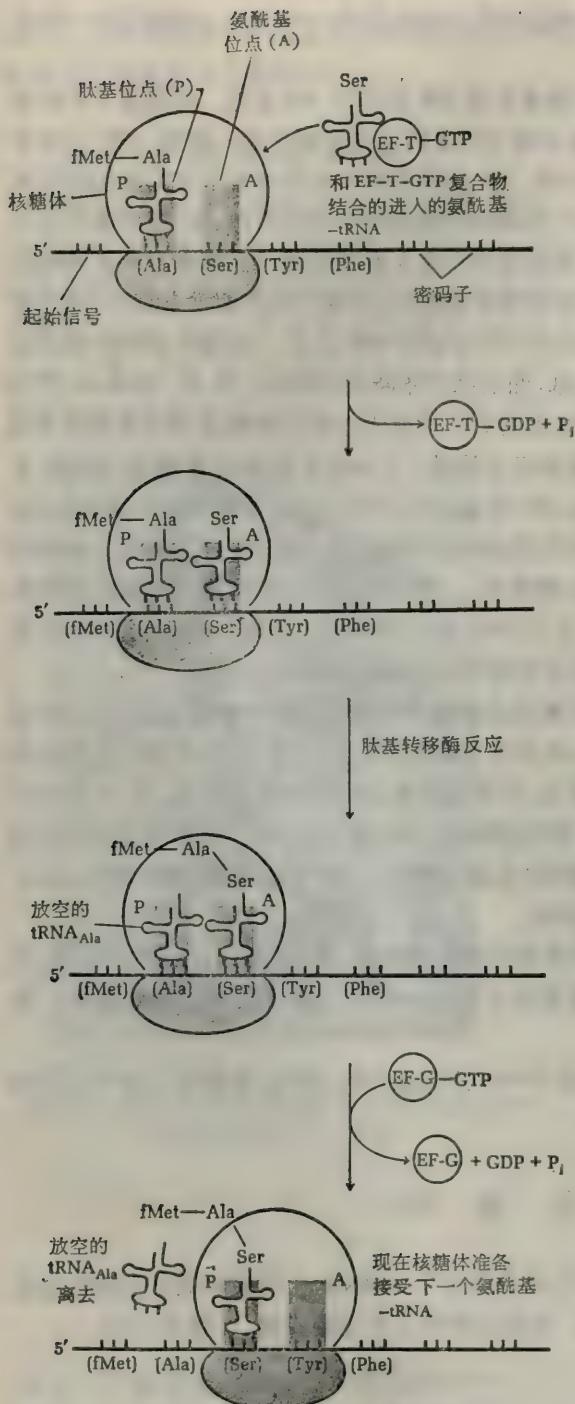
已经确定,mRNA 密码子的翻译是在 5'→3' 方向进行的;因此,核糖体上的 P 位点和 A 位点是能够识别 mRNA 链的极性的。

延 长 循 环

当起始氨酰基-tRNA(或肽基-tRNA)结合到位于 mRNA 上对应密码子上的肽基位点时,便进行延长,此时 A 位点是游离的。延长过程有三个主要步骤。(图 33-11)

第一步 进入氨酰基-tRNA 的结合

在第一步,进来的氨酰基-tRNA 以相当繁杂的过程加接到完整 70S 核糖体复合物的氨酰基位点(A 位点)上去。首先,进来的氨酰基-tRNA 和专一的细胞质蛋白质结合;在原核生物,这种细胞质蛋白质称为延长因子 T(EF-T),已经得到结晶形式。EF-T 含有两个亚基,EF-T_s 和 EF-T_u。EF-T 和 GTP 结合,放出 EF-T_s,形成 EF-T_u-GTP 复合物。EF-

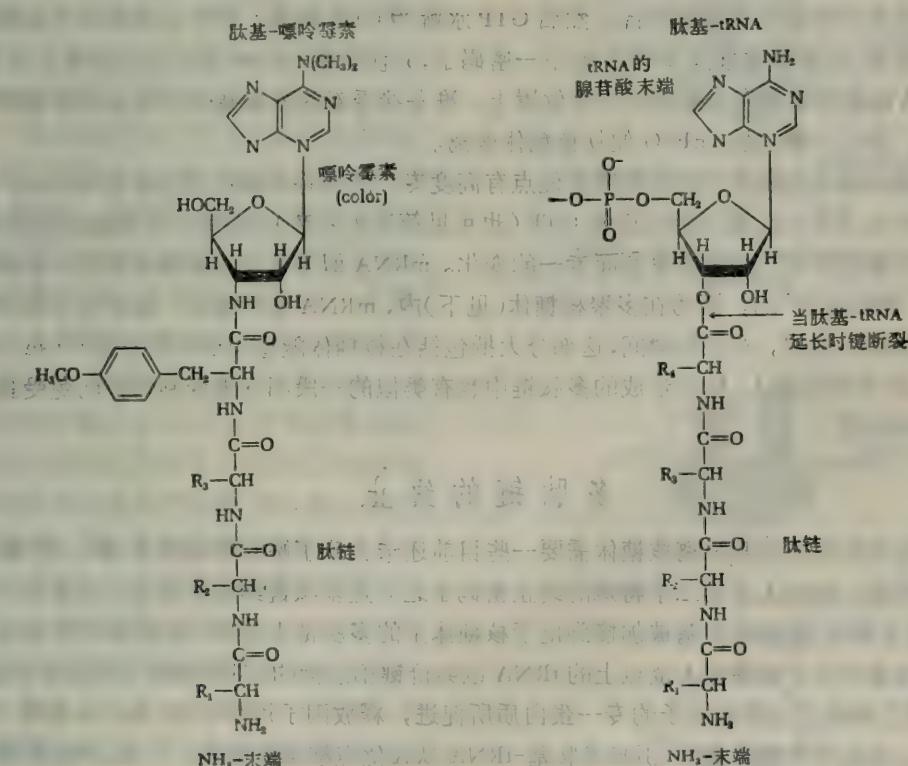


T_u -GTP 复合物和氨酰基-tRNA 结合形成三元的 $EF-T_u$ -GTP-氨酰基-tRNA 复合物。这个复合物再与核糖体结合成这种方式，即氨酰-tRNA 位于 A 位点上，其反密码子与 mRNA 上相应的密码子形成氢键。同时，所结合的 GTP 水解成 GDP 和 P_i ；GDP 以 $EF-T_u$ -GDP

复合物的形式离开核糖体。GTP 水解所提供的能量显然是置氨酰基-tRNA 于正确位子时所必需的。EF-T 不易迅速接受起始 fMet-tRNA。某些抗菌素，尤其是四环素（见下面），能够封阻氨酰基-tRNA 与 A 位点的结合。在真核细胞中，延长因子命名为 EF-1 和 EF-2；它们的功能略有不同。

第二步 肽键形成

以 fMet-tRNA 在 P 位点上，新结合的氨酰基-tRNA 在 A 位点上，氨酰基-tRNA 的氨基通过亲核作用与 fMet-tRNA 的酯化羧基碳起反应，就生成了第一个肽键。这一反应由肽基转移酶所催化，该酶存在于核糖体的 50S 亚基中（图 33-11, 33-12）。产物是结合在 A 位点上的二肽基-tRNA；已放空的 tRNA 仍结合在 P 位点上。新肽键的形成无需 ATP 或 GTP，它大概是在消耗 N-甲酰蛋氨酸及其 tRNA 之间的酯键键能时所形成的。虽然这里所说的是指多肽链第一个肽键的形成，但在每一延长循环所出现的过程是相同的，也就是在 A 位点上新结合的氨酰基-tRNA 的游离氨基取代位于 P 位点上的肽基-tRNA 的 tRNA 而形成新肽键。



嘌呤霉素与氨酰基-tRNA 相似，能够与肽基-tRNA 反应，进入的氨酰基-tRNA 与 tRNA 起反应生成肽基-嘌呤霉素。由于其多肽链不能延长，末端氨基酸上的氨基能够置换羧基末端氨基酸上的 tRNA，从而使肽链延长。已经分离得到许多不同链长的肽基-嘌呤霉素。

图 33-13 嘌呤霉素的抑制方式

应用抗菌素嘌呤霉素（图 33-13）抑制蛋白质合成的重要实验支持关于这一机制的设

想。嘌呤霉素的结构和 tRNA 末端腺嘌呤残基的氨酰基衍生物很相似。可是，在嘌呤霉素的糖组分和 4-甲氧基苯丙氨酸(即酪氨酸的甲醚)的羧基之间有一个酰胺键，以取代在核糖部分的 2'-或 3'-羟基和氨基酸的羧基之间的正常酯键。嘌呤霉素之所以能阻断肽链延长，正由于它能够在 P 位点被占据的情形下与 A 位点结合的能力，随后形成共价的肽基-嘌呤霉素衍生物(图 33-13)。然后，这样形成的肽基-嘌呤霉素从核糖体解离，因为它不具有被移位装置识别并将它移向 P 位点的精确结构。这些观察不仅确定了这种抗菌素的作用模式，而且提供了重要的确实证据，证明肽链增长是通过在多肽链羧基末端加接氨酰基-tRNA 而实现的。

第三步 移位

肽键形成之后，刚刚延长的肽基-tRNA 仍然结合在由新加接的氨基酸密码子所在的 A 位点上。现在，在延长循环(图 33-11)的第三步中，核糖体移向 mRNA 上的下一密码子，同时使肽基-tRNA 从 A 位点移到 P 位点。移位是相当复杂的过程，包括一系列步骤。这一步需要一种叫做延长因子 G(EF-G) 的专一性蛋白质以及 GTP。GTP 先和 EF-G 结合，所形成的复合物再与核糖体结合。然后 GTP 水解为 GDP 和 P_i 。GTP 水解提供引起构型改变的能量，使核糖体移向 mRNA 的下一密码子，并使肽基-tRNA 由 A 位点移至 P 位点。此时，A 位点空着并有一新密码子在位置上，准备接受新的氨酰基-tRNA 以开始新的延长循环。移位步骤之后，EF-G 便从核糖体解离。

牵涉到延长过程进行的历程需要位点有高度专一的拓扑结构以结合肽基-tRNA、氨酰基-tRNA、mRNA、延长因子以及 GTP(也可见第三十六章)。在每一次成键的循环中，核糖体可能在形状上经受着复杂而专一的变化。mRNA 似乎是穿过核糖体内的一条沟槽或隧道“循轨运行”的，因为在多聚核糖体(见下)内，mRNA 链中很大一部分是不易受核糖核酸酶的作用的。在任何瞬间，这部分大抵包括在核糖体隧道里面的所有段片(每个核糖体约 25 个核苷酸)。已经形成的多肽链中也有类似的一段同样地受到保护而免受蛋白水解酶的作用。

多肽链的终止

多肽链的完成及其脱离核糖体需要一些目前还未充分了解的特别的步骤。在第 34 章将会看到，mRNA 中的三个特殊的终止密码子之一是多肽链终止的信号。在最后一个(或羧基末端的)氨基酸残基被加接到位于核糖体上的多肽链上之后，多肽链仍然是通过其末端羧基和位于核糖体 A 位点上的 tRNA 以共价键相连接的。从核糖体上释放多肽基-tRNA 受三种称之为释放因子的专一蛋白质所促进，释放因子用符号 R_1 、 R_2 、 R_3 表示(图 33-14)。它们与核糖体结合，引起多肽基-tRNA 从 A 位点移至 P 位点。于是，多肽链和最后一个 tRNA 之间的酯键被水解了，显然这是肽基转移酶的作用。看来，此酶的专一性和催化作用因所结合的释放因子而发生改变。多肽一经释放，最后一个 tRNA 和 mRNA 便离开。游离的 70S 核糖体便解离为 50S 和 30S 的亚基，这一过程需要专一起始因子中的一个，并且一条新的多肽链又可开始建造。

完成了的多肽链脱离核糖体时的状态，究竟是不规则的卷链，还是具有天然三级构型的折叠分子，关于这方面了解甚少。第二种可能性似乎较大，因为分离得到的核糖体除了

具有与肽键合成机制有关的酶活性之外，显示了广泛的多种酶活性。据信，这些活性是由于紧紧地结合着的、已接近完成的，但仍在进行合成的多种酶类的多肽链而存在的。

多肽链翻译后的加工

多肽一经由核糖体构成，便必须经受共价的修饰，以生成其具有生物学活性的形式。

在原核生物已构成的蛋白质中，没有出现甲酰蛋氨酸残基的 N-甲酰基，它在脱甲酰酶的作用下被移去。此外，一些多肽的起始甲硫氨酰残基也被蛋氨酸氨基肽酶移除。一些蛋白质，例如烟草斑纹病毒的外壳蛋白质，在 NH₂-末端的 α-氨基上被乙酰化。这种乙酰基是在蛋白质合成完毕之后引入的，它们与蛋白质生物合成时肽链的起步无关。

多肽链构成以后可以酶促形成链内二硫交联键。C. B. Anfinsen 和其他研究者发现，微粒体能够催化经化学还原而失活的核糖核酸酶、溶菌酶以及其它蛋白质的-SH 基氧化，并形成二硫键。因为这些氧化产物恢复了其大部分天然酶促活性，看来，似乎还原型多肽链本身自发地折叠起来，以接近天然构型，从而使-SH 基的位置适宜于在它们被酶促氧化时生成正确的交联键（第六章）。因此，建立蛋白质正确交联键所需要的信息早已是在多肽链的氨基酸顺序中所固有的了。有关低聚蛋白质多肽亚基折叠和聚合的其它方面内容在别处叙述。

翻译之后发生的其它共价修饰，包括磷酸化作用、甲基化作用以及羟基化作用，也包括涉及到辅酶或辅基的附着的反应。

蛋白质生物合成的抑制剂

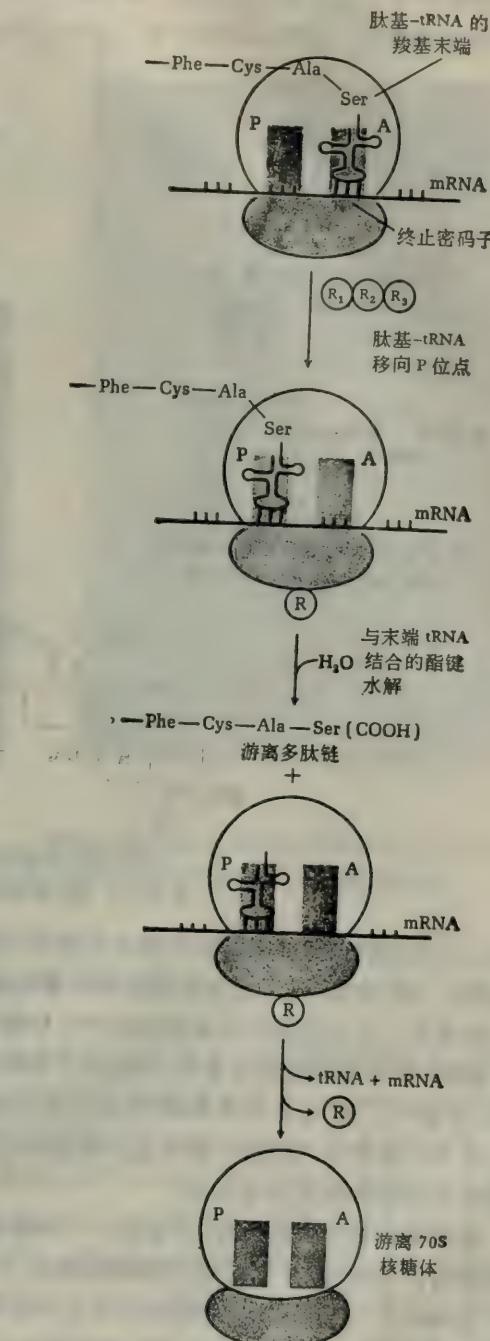
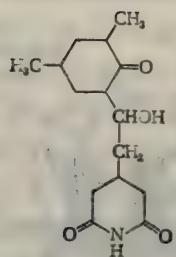
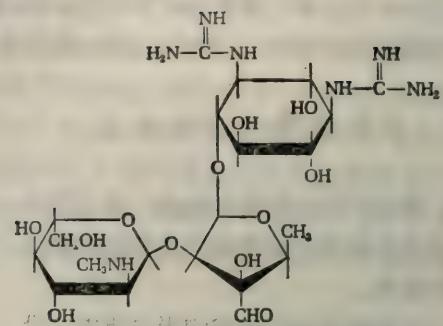


图 33-14 已完成的多肽链的释放步骤。R₁、R₂ 和 R₃ 是释放因子。利用哪一个取决于终止密码子。

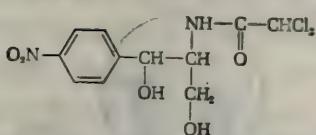
除上面已经提到的抗菌素（四环素和嘌呤霉素）之外，还有许多已知能抑制蛋白质合



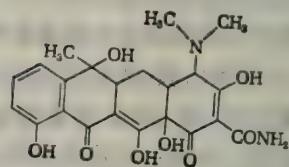
亚胺环己酮(抑制真核生物
80S 核糖体的蛋白质合成)



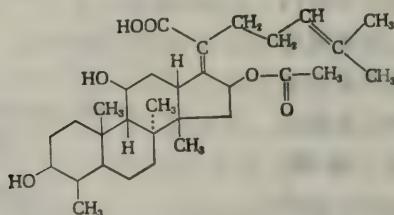
链霉素(与大肠杆菌核糖体 30S 亚基的一
种专一蛋白质相结合,引起抑制和错读)



氯霉素(通过阻断肽基转移反应抑制
细菌 70S 核糖体的蛋白质合成)



四环素(抑制氨酰基-tRNA 与 30S
亚基相结合)



梭链孢酸(间接抑制移位步骤)

图 33-15 蛋白质合成的其它抑制剂

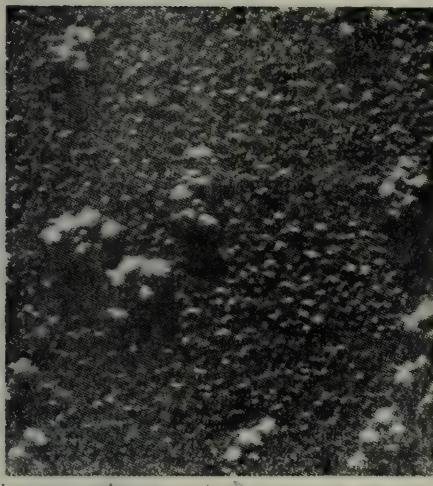
成的其它抗生素已经成为分析核糖体结构和功能的重要工具(图 33-15)。氯霉素抑制原核细胞内 70S 核糖体(以及真核生物线粒体内核糖体)上的蛋白质合成,因为它可阻断肽基转移反应。它不能抑制真核细胞内 80S 核糖体上的蛋白质合成。氯霉素用于治疗某些人体感染,但它相对地具有毒性,可能由于它抑制了线粒体核糖体内的蛋白质合成。另一方面,亚胺环己酮(也称放线菌酮)抑制真核生物 80S 核糖体内的蛋白质合成,而不抑制原核生物 70S 核糖体内的蛋白质合成。亚胺环己酮可以阻断肽键形成。氯霉素和亚胺环己酮都能与核糖体的大亚基结合。

链霉素和有关的抗生素(新霉素、卡那霉素)与原核细胞核糖体内的小亚基结合。它们抑制蛋白质合成,并引起遗传密码的错读,这或许是由于改变了核糖体的构型,以致于氨酰基-tRNA 与 mRNA 上的密码子结合不够牢固。抗链霉素的或依赖链霉素的突变细胞具有通过遗传而改变了的 30S 核糖体亚基。

除抗生素以外的抑制剂包括生物碱吐根碱和白喉毒素,前者抑制氨酰基-tRNA 的结合,后者是白喉杆菌分泌的一种有毒蛋白质。白喉毒素实际上是一种酶,它催化真核生物核蛋白体内 NAD⁺ 和延长因子 EF-2 之间的反应,生成一种无活性的 ADP-核糖-EF-2 复合物。

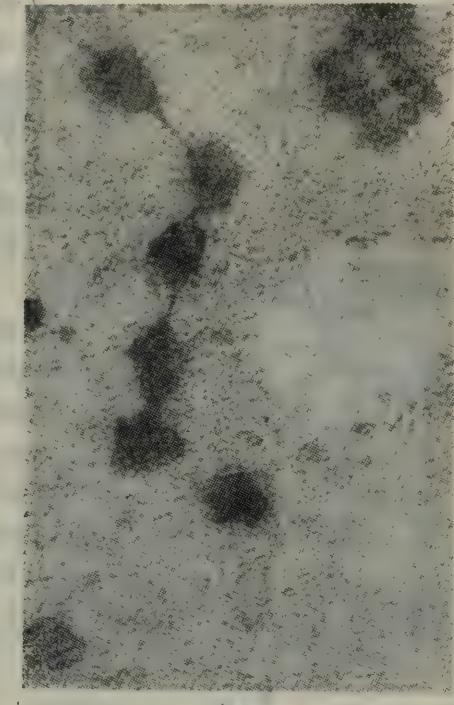
合物，从而抑制了移位作用。

有毒植物蛋白质红豆碱和蓖麻蛋白通过使 60S 亚基失活，因而阻断了延长作用，而抑制真核生物核糖体的蛋白质合成。有一些证据表明，这些植物蛋白质对癌细胞的毒性大于正常细胞。这两种植物蛋白质和白喉毒素一样，含有两条由二硫交联键相连接的多肽链。



100 毫微米

阴影显相制剂



100 毫微米

用醋酸双氧铀染色的制剂显示在核糖体之间的 mRNA 股。

图 33-16 具有合成血红蛋白多肽链功能的网织红细胞多聚核糖体的电子显微镜照相

多聚核糖体

在避免核糖核酸酶活性和机械切变的条件下，小心分离所得到的核糖体是成簇的，每簇含核糖体少则 3、4 个，多至 100 个。这种簇团称为多聚核糖体 (polyribosomes 或 polysomes)，它能够在核糖核酸酶的作用下分裂成单核糖体 (monosomes)，这表明多聚核糖体是由于 RNA 而集合在一起的。在电子显微镜照相中，确能看到相毗连核糖体之间的连接纤维(图 33-16)。RNA 的连接股其实就是 mRNA，后者被隔一定距离排列着的几个核糖体同时“读出”。多聚核糖体上每一个独立的核糖体能够制造一条完整的多肽链而无需其它核糖体的存在。这样的安排更有效地利用了 mRNA 模板，因为能够从模板上同时制造几条多肽链(图 33-17)。正如上面所指出的那样，mRNA 是由 $5' \rightarrow 3'$ 方向进行翻译的。在细菌中，转录和翻译通常相偶联着，所以当 mRNA 被从 DNA 转录时，便开始进行翻译。(图 33-18)

约含 150 个氨基酸残基的血红蛋白多肽链，由一个约含 $3 \times 150 = 450$ 个核苷酸残

基，链长约 150 毫微米的 mRNA 分子提供密码。由于每个 80S 网织红细胞核糖体的直径

是 22 毫微米，显然，在 mRNA 沿线有足够的空间能够让几个核糖体同时读出 mRNA。从网织红细胞分离的多聚核糖体含有 5 或 6 个核糖体。若最大数目是 6 个，那么沿着 mRNA 上，相邻的各个 22 毫微米核糖体之间的平均间隙约为 3.0 毫微米。显然，各个核糖体能够沿 mRNA 链活动的余地相当小，大概它们的移动速率是同步的。在最大的多聚核糖体系统中，有一些是负责肌球蛋白重链（约含 1,800 个氨基酸残基）的生物合成的。这种多聚核糖体含有 60 个或更多个核糖体。

用高分辨率电子显微镜术，显示多聚核糖体具有相当程度的三维结构。含有 6 个或更多个核糖体的多聚核糖体有时形成有规则的紧密的蜗卷结构，其中小亚基面向内侧（图 33-19）。已有异常的发现，即当高等有机体的某些组织，尤其是鸡的胚胎组织，在固定切片之前先在 0℃ 冷冻一段时间，则核糖体形成四聚体，后者在细胞内呈极规则的晶格并且看来参与结晶的形成。（图 33-20）

增长中的多肽链

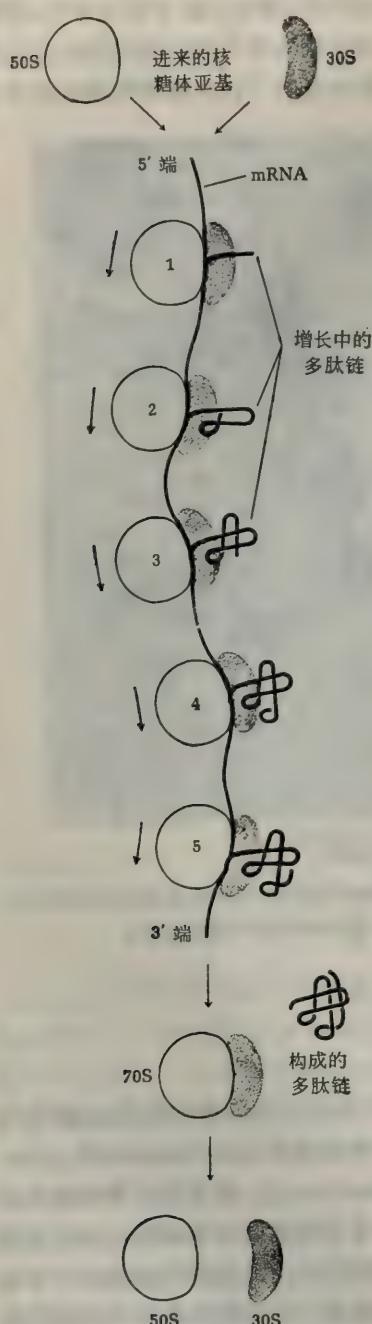


图 33-17 多聚核糖体。五个核糖体同时阅读 mRNA，从 5' 端移向 3' 端。

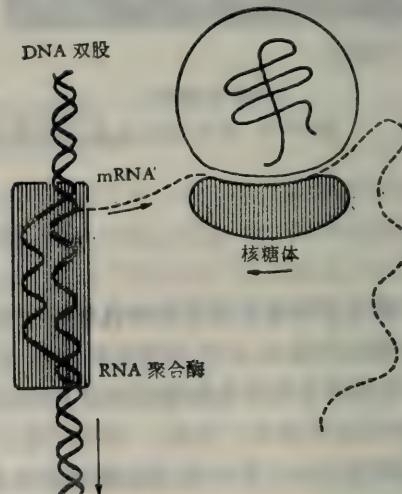


图 33-18 细菌细胞内的 DNA、mRNA、RNA 聚合酶和一个核糖体的功能性复合体。在 mRNA 由 RNA 聚合酶催化构成之前，核糖体就开始进行阅读了。

蛋白质合成中的能量需要

我们已知在氨基酸激活反应中，每形成一分子氨酰基-tRNA，大概利用了两个高能磷

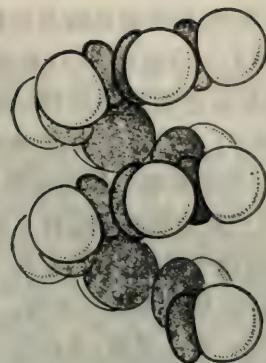


图 33-19 游离多聚核糖体内单个核糖体紧密绞合呈螺旋状结构。核糖体很紧凑地沿 mRNA 排列。[再录自 E. Shelton and E. L. Kuff, *J. Mol. Biol.*, 22: 23, (1966)]

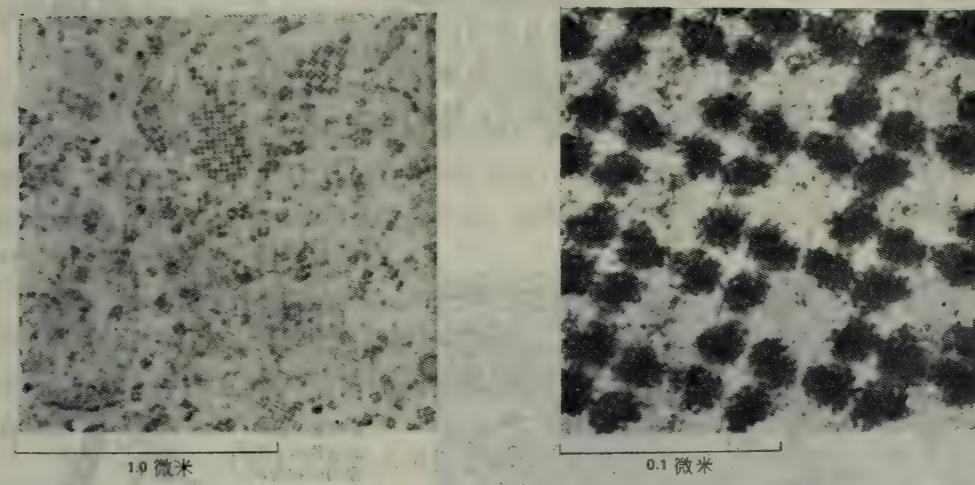


图 33-20 电子显微镜照相显示核糖体在鸡胚肝细胞内呈规则的晶体排列，鸡胚肝在固定前曾于 0℃ 保存一段时间。

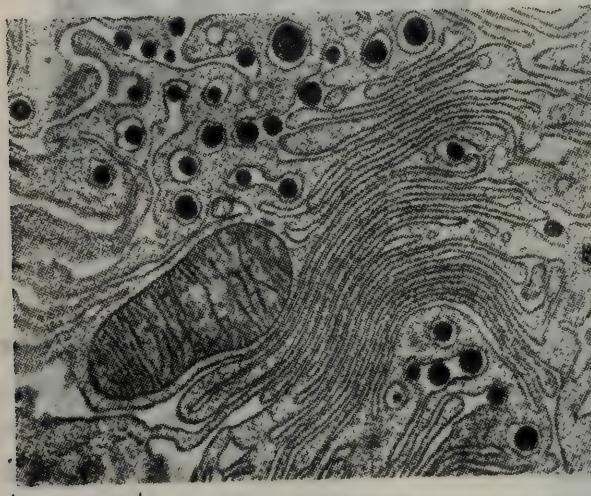
酸键。此外，当每个氨酰基-tRNA 结合到核糖体的 A 位点上时，一分子 GTP 裂解为 GDP 和 P_i，并且在核糖体沿着 mRNA 移位时，另 1 分子 GTP 被水解。因此，为合成完全蛋白质的每一个肽键，最终需要总数为 4 个高能磷酸根。这表示朝合成方向有一种非常大的热力学“拉力”，因为，生成 1 个肽键共约需投入 $7.3 \times 4 = 29.2$ 千卡热，此肽键的标准水解自由能虽然知道得还不太精确，但至多不过 -5.0 千卡。因此，肽键合成时的净 ΔG° 约为 -24.2 千卡，这使得在消耗磷酸键能的条件下所进行的肽键合成成为压倒一切地是放能反应，而且本质上是不可逆的。虽然这看起来是极大的耗费，但这是细胞必须付出的代价，以便保证把 mRNA 的遗传信息接近完全忠实地翻译成蛋白质的氨基酸顺序。在大多数有机体内，蛋白质合成时消耗的能量多于其它任何生物合成过程；在大肠杆菌细胞内，高至 90% 的生物合成能量用于蛋白质生物合成上。

真核细胞细胞质内的蛋白质合成和分泌

真核细胞大的 80S 细胞质核糖体上多肽链的生物合成和细菌体内 70S 核糖体上多肽

链合成的方式相同，但细节上有些差别。起始氨基酸是蛋氨酸而不是 N-甲酰蛋氨酸，它以蛋氨酰-tRNA 的特殊形式，与 mRNA 上的起始 AUG 密码子起反应。真核生物起始复合物的形成需要起始因子和 GTP，起始复合物必须从 40S 核糖体亚基开始。真核生物核糖体的延长需要延长因子 EF-1 和 EF-2；此外，氨酰基-tRNA 的结合以及移位步骤两者都需要 GTP。真核生物系统的 EF-2（并非原核生物的相对应部分）在被上面提到的白喉毒素所促进的新奇的反应中失活。关于真核生物中的终止步骤尚未详细分析。

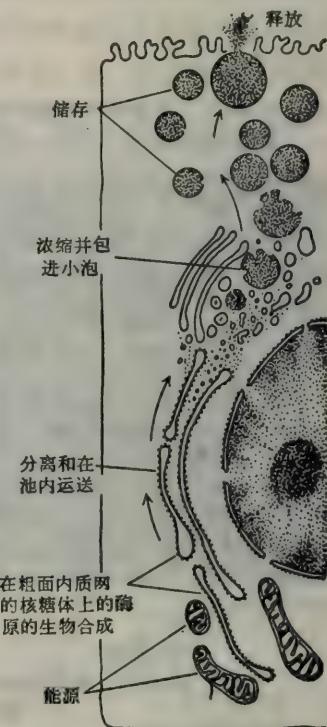
在原核细胞内，核糖体大量地游离于细胞质中，主要呈多聚核糖体形式，而在真核细胞内，核糖体既可游离，又可和内质网结合，组成粗面内质网。有人设想，真核生物内游离的细胞质内核糖体是用来合成打算内部使用的蛋白质的，如在网织红细胞内的血红蛋白合成那样，而附着在内质网外表面的核糖体被认为是用来合成可以分泌到细胞外的蛋白质的。在合成和分泌消化酶的胰腺外分泌细胞以及生成和分泌血浆蛋白质的肝细胞中，结合于内质网的核糖体特别丰富。



外分泌细胞切片的电子显微镜照相，显示电子致密的酶原颗粒。

图 33-21 胰腺外分泌细胞内酶原蛋白质的生物合成和分泌

应用电子显微镜和生物化学方法较为详细地研究了胰腺外分泌细胞内蛋白质合成的过程（图 33-21）。新生成的蛋白质，例如胰蛋白酶原和糜蛋白酶原，离开所结合的核糖体，以还不了解的过程通过内质网膜进入池内间隙，后者作为一种收集渠道系统。池内间隙的内容物由高尔基氏体浓缩，并“包装”成酶原颗粒——这是大而致密的酶原分子的聚集体——外面包有单层膜。酶原分子在被分泌之前就是以这种形式储存着。在酶原颗粒的膜与原生质膜融合，以及酶原颗粒腔向外界开口后，它们便将其内容物释放到细胞外面去。（图 33-21）



胰腺细胞模式图，表示新合成酶原蛋白的分泌步骤。[再录自 D. Fawcett, "Structural and Functional Variations in the Membranes of the Cytoplasm," in S. Seno and E. V. Cowdry (eds.), *Intracellular Membrane Structures*, Japanese Society for Cell Biology, 1963]

线粒体内的蛋白质合成

从多种类型真核细胞分离出来的线粒体，可以将标记氨基酸掺入线粒体蛋白质中去。线粒体含有蛋白质合成所需要的全部必需组分，包括 mRNA、核糖体、tRNA 和氨酰基-tRNA 合成酶，所有这些组分都各有其特点，和真核生物内线粒体外蛋白质合成所需要的迥然不同。线粒体核糖体的大小差别很大，这取决于细胞在系统发育谱上的位置。高等有机体线粒体的核糖体的沉降系数是 50 S 至 60 S，而原始真核生物、酵母和真菌的则为 70 S 至 80 S。它们的亚基大小也相应地有差别；在人体细胞线粒体中的核糖体的亚基是 45S 和 35S，而取自酵母的是 55S 和 38S。动物组织线粒体中的核糖体不是经常容易在电子显微镜下观察到的，它们常位于嵴间的内膜部分上。

如上面所指出的，真核细胞线粒体含有独特的专一 tRNA 和氨酰基-tRNA 合成酶，它们与线粒体外细胞质中所发现的不同。氯霉素能抑制线粒体核糖体的蛋白质合成，但不能抑制真核细胞内 80S 核糖体的线粒体外蛋白质的合成。此外，线粒体蛋白质合成的起始氨基酸是 N-甲酰蛋氨酸，而细胞质 80S 核蛋白体却以蛋氨酸为起始氨基酸。因此，线粒体的蛋白质合成类似细菌的蛋白质合成。这些观察支持下列假设：即在真核细胞进化时，线粒体起源于寄生的需氧细菌。

除了专一的环状线粒体 DNA 以外（第十二章、第三十一章），线粒体还含有依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶，这种酶可以被放线菌素 D 所抑制。所以线粒体能够从它们的 DNA 生成 mRNA。观察到，放线菌素 D 能抑制分离出来的线粒体中的蛋白质合成，说明蛋白质合成需要线粒体 mRNA。

最有兴趣的一点是关于线粒体所合成的蛋白质的一致性。因为许多证据表明，大多数线粒体酶和蛋白质是由核染色体内的基因所规定的，并且是在线粒体外的核糖体上合成的。线粒体 DNA 为线粒体 rRNA 以及或许大多数线粒体 tRNA 提供密码，而只剩下少量线粒体 DNA 为蛋白质合成提供密码。已知线粒体 DNA 规定了 F₁ATP 酶的一种或多种疏水蛋白质亚基的合成，细胞色素 aa₃ 的一个亚基的合成，或许还有细胞色素 b 一个亚基的合成。

叶绿体也有和线粒体内相似的独立的蛋白质合成机构。核酮糖二磷酸羧化酶的亚基之一和叶绿体核糖体的有些亚基都是在叶绿体内合成的。

蛋白质合成的老化和误差

对于动物组织内蛋白质合成的准确性以及合成产生错误的后果问题，引起很大的兴趣。有证据表明，结构相似的氨基酸能够取代一个既定氨基酸残基的机会小于三千分之一，因此，掺入不相似的氨基酸的误差机会可能是很小的。有假设认为，蛋白质生物合成的误差频率随动物的年龄而增加，可以达到使所合成的蛋白质分子的活性降低，甚至没有活性的程度。这一假设被下述直接实验所证实，实验动物骨骼肌内具有催化活性的醛缩酶的含量同用对该酶专一的抗体来滴定所能测出的醛缩酶蛋白含量相比，是动物年龄的函数。虽然老年动物肌肉内用免疫学方法测出的醛缩酶的总量不变，但是分离得到的醛

缩酶的催化活性只有从年轻动物所分离的三分之一。这意味着，老年动物醛缩酶生物合成过程中造成许多误差，使得醛缩酶分子全体的大部分失活。这些有趣的值得延续的观察意味着翻译的准确性可能随年龄增长而普遍退化。

摘要

从被激活的氨基酸合成蛋白质，是在核糖体表面进行的。在细胞质里，氨基酸首先被氨酰基-tRNA 合成酶（能催化同系 tRNA 的氨酰酯的形成）的所激活；同时，ATP 裂解为 AMP 和焦磷酸。氨酰基-tRNA 合成酶对氨基酸及其相应 tRNA 两者都是高度专一的。对每一种氨基酸有不只一种类型的 tRNA。氨酰基-tRNA 合成酶也有相当的物种专一性。氨酰基-tRNA 的氨基酸部分，对于氨酰基-tRNA 与 mRNA 的互补密码子的相互作用的专一性没有贡献，因此，tRNA 是一种“连接物”。

多肽链是从 N-末端氨基酸残基开始建造的。新氨酰残基加接到肽基-tRNA 的 C-末端羧基上，这是通过 tRNA 从羧基碳原子上进行亲核置换而实现的。在大肠杆菌中，起始氨基酸是 N-甲酰蛋氨酸，它以 N-甲酰蛋氨酸-tRNA (fMet-tRNA) 的形式参加进来。fMet-tRNA 和 mRNA 同核糖体的游离 30S 亚基结合形成起始复合物，这个过程需要 GTP 和三种起始因子：IF-1, IF-2 和 IF-3。起始复合物再和 50S 亚基结合形成功能性的 70S 核糖体。在随后的延长过程中，需要细胞质延长因子 EF-T 和 GTP 的水解，才能使进来的氨酰基-tRNA 有正确的结合。肽基位点上的肽基转移到氨酰位点上新的氨酰基-tRNA 的氨基上，这是由存在于 50S 亚基上的酶活性所催化的。肽基-tRNA 从氨酰位点移位到肽基位点上需要细胞质延长因子 EF-G 和第二个分子 GTP 的水解。每嵌入一个氨基酸，需要 4 个高能磷酸根。多肽基-tRNA 到达 mRNA 上的终止密码子时，便在释放因子 R_i 和 R_j 参加下，从 tRNA 和核糖体上释放下来。已知许多蛋白质合成的抑制剂，大多数是和核糖体的小亚基或大亚基结合因而干扰某个专一步骤。嘌呤霉素抑制肽链合成是由于它和核糖体上的肽基-tRNA 相互作用生成肽基-嘌呤霉素而从核糖体上脱离所致。

多聚核糖核糖体，又称多聚核糖体是由 mRNA 分子组成的，mRNA 上附有几个或多个核糖体，每个核糖体能够独立地阅读 mRNA 并建成一条多肽链。真核细胞内的蛋白质合成可以在游离核糖体或在附着于内质网上的核糖体上进行。胰腺细胞内内质网池形成渠道，以运输要输出的新合成的蛋白质。蛋白质合成也能在线粒体和叶绿体内进行。线粒体和叶绿体内含有 mRNA、各种专一的 tRNA、氨酰基-tRNA 合成酶和核糖体；此核糖体在许多方面与细菌内的核糖体相似。

参考文献

书籍

- Arnstein, H. R. V. (ed.): *Synthesis of Amino Acids and Proteins*, vol. 7 of MTP International Review of Science, Biochemistry Section, University Park Press, Baltimore, 1974. A collection of comprehensive reviews.
- Campbell, P. N., and J. R. Sargent: *Techniques in Protein Biosynthesis*, 3 vols., Academic, New York, 1967.
- Farber, E. (ed.): *The Biochemistry of Disease*, vol. 2 *The Pathology of Transcription and Translation*, Dekker, New York, 1972.

论文

- Byers, B.: "Chick Embryo Ribosome Crystals: Analysis of Binding and Functional Activity in Vitro," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 68: 440—444 (1971).
- Førchhammer, J., and L. Lindahl: "Growth Rate of Polypeptide Chains as a Function of the Cell Growth Rate in a Mutant of *E. coli*," *J. Mol. Biol.*, 55: 563—568 (1971).
- Fuller, W., and A. Hodgson: "Conformation of the Anticodon Loop in tRNA," *Nature*, 215: 817—821 (1967).
- Grant M. E., and D. J. Prockop: *New Engl. J. Med.*, 286: 194—199, 242—249, 291—300 (1972). A series of articles describing the biosynthesis of collagen, the most abundant protein in the body.
- Haselkorn, R., and L. B. Rothman-Denes: "Protein Synthesis," *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 397—438 (1973). An important, clearly written review.
- "Initiation of Protein Synthesis in Prokaryotic and Eukaryotic Systems," summary of an international workshop held in 1974, *FEBS Lett.*, 48: 1—6 (1974).
- Kim, S. H., et al.: "Three-Dimensional Structure of Yeast Phenylalanine Transfer RNA," *Science*, 185: 435—440 (1974).
- Kisselev, L. L., and O. O. Favorova: "Aminoacyl-tRNA Synthetases: Some Recent Results and Achievements," *Adv. Enzymol.*, 40: 141—238 (1974). Compilation of many data.
- Kurland, C. G.: "Ribosome Structure and Function Emergent," *Science*, 169: 1171—1177 (1970).
- Morimoto, T., G. Blobel, and D. Sabatini: "Ribosome Crystallization in Chicken Embryos," *J. Cell. Biol.*, 52: 355—366 (1972).
- Nomura, M.: "Bacterial Ribosomes," *Bacteriol. Rev.*, 34: 228—277 (1970).
- Nonomura, Y., G. Blobel, and D. Sabatini: "Structure of Liver Ribosomes Studied by Negative Staining," *J. Mol. Biol.*, 60: 303—323 (1971).
- Olsnes, S., K. Refsnes, and A. Pihl: "Mechanism of Action of the Toxic Lectins, Abrin and Ricin," *Nature*, 249: 627—631 (1974). These toxic plant proteins inhibit chain elongation in eukaryotic ribosomes.
- Pongs, O., K. H. Nierhaus, V. A. Erdmann, and H. G. Wittmann: "Active sites in *E. coli* Ribosomes," *FEBS Lett.*, 40: S28—S35 (1974).
- Schatz, G., and T. L. Mason: "The Biosynthesis of Mitochondrial Proteins," *Ann. Rev. Biochem.*, 43: 51—87 (1974).
- Sprinzl, M., and F. Cramer: "Accepting Site for Aminoacylation of tRNA_{phe} from Yeast," *Nature New Biol.*, 245: 3—5 (1973). Identification of the 2' position of the terminal adenylic residue of tRNAs as the site of esterification.
- Vazquez, D.: "Inhibitors of Protein Synthesis," *FEBS Lett.*, 40: S63—S84 (1974). Comprehensive classification of antibiotics and other toxic agents according to site of action.
- Zameenik, P. C.: "Protein Synthesis," *Harvey Lect.*, 54: 256 (1960). A personal account of the early research which led to the identification of ribosomes, transfer RNA, and the activation reaction.

习题

1. 大肠杆菌核糖核酸酶含有 104 个氨基酸残基。在细胞内条件下，对其 mRNA 进行翻译要多长时间？将这个时间与合成其基因所需的时间相比较。参见第三十二章习题 2。
2. 假设反应从游离氨基酸、tRNA、氨酰基-tRNA 合成酶、GDP、ATP、核糖体以及翻译因子开始，那么翻译一次核糖核酸酶的 mRNA 要用掉多少个高能磷酸键？
3. 大肠杆菌内 RNA 的总质量是 3.2×10^{10} 道尔顿，其中 80% 是 rRNA, 15% 是 tRNA, 5% 是 mRNA。一个核糖核苷酸的平均分子量是 340。(1) 假定每个核糖体中 RNA 的分子量是 1.7×10^6 ，mRNA 平均长度为 1,000 个核苷酸，那么，每个信使 RNA 上有多少个核糖体？(2) 假定每个连接物的长度为 90 个核苷酸，那么，每个核糖体上有几个 tRNA 分子？

4. 大肠杆菌内核糖体蛋白质的总分子量约为每个核糖体一百万。假定在细胞内的 15,000 个核糖体的每个之中蛋白质仅仅存在一个副本，而每个核糖体蛋白质 mRNA 分子被翻译 15 次，计算：

- (a) 每个核糖体蛋白质基因必须多少时候被转录一次？
- (b) 假使核糖体蛋白质中一个氨基酸残基的平均分子量是 110，那么，这些基因内含有多少个核苷酸？
- (c) 为了合成足够的 mRNA 对单个细胞核糖体内的所有蛋白质提供密码，如从 ATP 和核糖核苷酸 5'-一磷酸开始，转录这些基因要消耗掉多少个高能磷酸键？
- (d) 用一种像在习题 2 中所提到的混合培养基在翻译这些 mRNA 时，要消耗多少高能磷酸键？近似地假定每个核糖体的蛋白质组分是从单个 mRNA 作为一条肽链而被合成的。
- (e) 合成核糖体，包括 rRNA 和 mRNA 的转录以及 mRNA 的翻译，要消耗多少高能磷酸键？
- (f) 与复制(第三十二章习题 5)时的能量消耗相比较，情形如何？
- (g) 在计算蛋白质合成装置的总能量值时，必须考虑什么其它组分的能量值？

5. 两次突变相距越远，它们再结合形成野生型 DNA 的可能就越大。已分离出噬菌体 T₄ 头蛋白基因的 26 种不同突变体，并用字母 A 至 Z 标号。在 4 种代表性突变体的交叉中已观察到下列再结合的相对频率：S × D = 0.2%，Y × D = 0.3%，E × Y = 0.2%，Y × S = 0.5%。在转导图上，对其它突变相对而言将突变体 E 定位在已转录股的 3' 端上。

- (a) 作出 4 种突变的遗传图，表示转录的方向。
- (b) 所有这 4 种突变都属于所谓无意义的突变类型，它能引起 mRNA 翻译过程的提早终止。假若基因和蛋白质是线性相关的(就像这些实验所证明的)请按照大小递减的顺序排列突变体的头蛋白。

[孙秀泓译 方暨岚校]

第三十四章 遗传密码

在前章我们知道核糖体在合成蛋白质的肽键中如何起作用，以及它如何按照信使 RNA 规定的正确顺序排列氨基酸。现在我们将考虑四个字母的核酸语言如何翻译成 20 个字母的蛋白质语言。我们的目的是检查核苷酸顺序和氨基酸顺序之间形式的对应性，氨基酸的遗传密码词汇，在 tRNA 上相对应的反密码子，以及多肽链的起始和终止的信号。

虽然早期遗传学实验提出，每一种氨基酸最终由 DNA 上少数连续的核苷酸所编码，但要把规定 20 种氨基酸中每一种的核苷酸顺序鉴别出来，似乎是一个毫无希望的困难任务。但是出现了一个意外的突破，使得有可能用简单而又直接的生物化学方法解决这个问题。因此，氨基酸密码词汇的遗传学字典现已为人们所熟识，并且已由独立的遗传学和生物化学证据所完全证实。遗传密码的阐明是近代科学上最大成就之一，然而如象我们将要看到的那样，这一新知识已引出大量新的、有趣的问题。事实上，遗传密码的起源可能在生命本身的起源中已是个核心的问题。

密码单位的大小

仅从数学方面来考虑，长期以来认为很可能每一种氨基酸残基只由 DNA 链上少数几个连续的核苷酸来编码。显然，由于 DNA 上只有四种碱基，而蛋白质有 20 种氨基酸，因此需要一个以上的核苷酸。此外，由于 DNA 的四个密码字母 (A, G, C, 和 T) 按 2 个字母一组进行排列只可能得到 $4^2 = 16$ 种不同的配对，因此，氨基酸密码词汇必须含有 2 个以上的字母。理论上四个碱基一次用上三个，就可规定 $4^3 = 64$ 种不同的氨基酸。因此，一个三联体密码为氨基酸编码是可行的。

从病毒生物学的研究也证明，每一个氨基酸残基由一个比较短的核苷酸顺序来编码。例如，烟草坏死卫星病毒含有一个具有大约 1,200 个核苷酸的 RNA 分子，作为合成病毒外壳蛋白亚基的密码。由于每一个亚基接近有 400 个氨基酸残基，因此，假定密码不需要标点，即无逗点的话，看来似乎给每一个氨基酸编码需要 $1200/400 = 3$ 个核苷酸。另外一种方法来自对噬菌体 T₄ 移码突变型的遗传学研究，即在噬菌体上撤除（或插入）一个、二个或三个核苷酸残基。如果缺失一个或二个核苷酸残基，则导致合成有缺损的具有许多错误的氨基酸的外壳蛋白质；但若是三联体缺失（或三联体插入），则合成的外壳蛋白，只有一个氨基酸残基的得失，而其余氨基酸都是正常的。所有这些和其它一些遗传学实验也都支持一个无逗点的三联体密码。然而，1960 年事情已变得很清楚了，即要精确地鉴定氨基酸密码词汇的性质，需要一种直接生物化学的方法。

核糖体系统对 mRNA 的依赖性

在早期把标记的氨基酸掺入到蛋白质的实验中，采用了分离的核糖体并加上 ATP、

GTP、Mg⁺⁺、氨基酸,以及适当的含有 tRNA 和氨酰基合成酶的部分,发现经过短期培养之后氨基酸的掺入常会中止,特别在细菌的核糖体上。而且事先用核糖核酸酶简单处理大肠杆菌核糖体,也使氨基酸掺入核糖体的活性丧失。这些研究提示:分离的新鲜核糖体含有蛋白质合成所需要的某种形式的 RNA,它很迅速地被内源性核糖核酸酶的作用所破坏。但是把从大肠杆菌细胞分离出来的 RNA 加到这种耗竭的核糖体中时,它们使氨基酸掺入的能力就得到恢复。然而最重要的发现为来自大肠杆菌耗竭核糖体的活性可以用其它种类的 RNA 来恢复。所有这些发现都与下述假说相符合,即不稳定的 RNA 带有为氨基酸顺序编码的信息,以及大肠杆菌的核糖体能够“阅读”并翻译来自其它物种的 RNA。

于是为 M. Nirenberg 和 H. Matthaei 在 1961 年首次报告了的戏剧性的实验奠定了基础,在这些实验中,他们将人工合成法制备的已知碱基成分的多聚核糖核苷酸加到分离出来的核糖体中,以测定所谓的信使 RNA 的核苷酸成分和对它作出反应时所形成的多肽里边氨基酸成分之间的相互关系。

在他们的首批实验中,他们在含有信使已被耗竭的大肠杆菌核糖体的一系列试管中,培养了由多核苷酸磷酸化酶的作用制成的像 RNA 样的多聚体多聚尿苷酸(多聚 U),在这些试管中还补充有通常支持多肽合成所必需的成分,包括所有各种氨基酸。在每管中标记一种不同的氨基酸。在培养结束时,分析从试管取得的不溶于酸的多肽部分,发现从 18 种标记的氨基酸中,仅一种氨基酸即苯丙氨酸在形成的多肽部分中存在放射性。进一步的分析证明在与合成的多聚 U 信使反应所形成的多肽链只含有苯丙氨酸残基。因此 M. Nirenberg 和 H. Matthaei 设想三联体 UUU 是苯丙氨酸的密码词汇。在类似的实验中他们发现合成的多聚核糖核苷酸多聚 C 为多聚脯氨酸的密码;后来 S. Ochoa 和他们的同事们发现多聚 A 为多聚赖氨酸的密码。由此看来,三联体密码 UUU 为苯丙氨酸的密码,CCC 为脯氨酸的密码,而 AAA 为赖氨酸的密码。

为了测定为其它氨基酸编码的三联体的核苷酸成分,利用多核苷酸磷酸化酶作用于适宜的核苷 5'-二磷酸盐底物的混合物而制备了各种核糖核苷酸共聚物。可以回忆这种共聚物的成分反映出开始时的核糖核苷 5'-二磷酸混合物的成分。改变作为底物使用的两种 NDPs,例如 UDP 和 GDP 的比率,那么制备出来的共聚物,其 U 和 G 残基的比率必然也发生相应的改变。在这样一种 UG 共聚物中,U 和 G 残基的顺序是不清楚的。然而,如果共聚物中的碱基的比率已知,则 U 和 G 在多聚 UG 中的各种可能发生的三联体,即

表 34-1 由任意共聚物多聚 UG(U:G 比率为 5:1)编码的氨基酸

可能的三联体	计算出的发生频率*	观察到的氨基酸掺入的相对量
UUU	100	苯丙氨酸 100
UUG	20	半胱氨酸 20
UGU	20	缬氨酸 20
GUU	4	
UGG	4	甘氨酸 4
GUG	4	色氨酸 5
GGU	0.8	
GGG	0.8	

* 假定 UUU 的频率 = 100

UUU, UUG, UGU, GUU, UGG, GUG, GGU, 和 GGG 的相对丰度都能计算出来(表 34-1)。把 UG 共聚物的成分和在新形成的多肽中存在的放射性氨基酸的种类和数量进行比较,便能对规定某些氨基酸的密码词汇可能的碱基的成分作出一些结论。通过这种实验 Nirenberg 和 Ochoa 的实验室很快成功地鉴定出为各种氨基酸编码的大约 50 种密码词汇的核苷酸成分。

密码词汇中碱基的顺序

虽然上述实验研究获得了密码词汇的核苷酸成分,而有关三联体的核苷酸的顺序,即他们的拼法的资料却获得很少。但当 Nirenberg 和他们的同事 P. Leder 提出一种不只是研究密码词汇内核苷酸成分,而且也研究核苷酸顺序的更直接的新方法时,则立即为解决这个问题提供了一条直接的途径。他们发现,在没有 GTP 的情况下,培养在 $0.02M\text{ MgCl}_2$ 中的分离的大肠杆菌核糖体,便能结合象多聚 U 那样的合成的信使 RNA 制剂。同时,它们还会结合一分子由该信使所规定的氨酰基 tRNA。例如,与多聚 U 一起培养的核糖体同时都与苯丙氨酸-tRNA_{Phe} 结合,而不与其他氨酰基-tRNA 结合。在这样的系统中,由于缺乏 GTP,所以没有肽键的形成。这种试验就称为结合检验。在这种结合检验中,发现简单的三核苷酸起着信使的作用,因此三核苷酸 UUU 就足以充当信使,支持苯丙氨酸-tRNA_{Phe} 的结合。同样将 AAA 加到核糖体则促进与赖氨酸-tRNA_{Lys} 的结合,而无其它氨酰基-tRNA 的结合。

在建立密码词汇的顺序之前,必须明确地决定信使三联体的读出的方向,或是按 $5' \rightarrow 3'$ 或是按 $3' \rightarrow 5'$ 方向(记住在多聚核苷酸的速记中是按 $5' \rightarrow 3'$ 方向指定顺序的,从左向右阅读,左端的残基上有一个 $5'$ -磷酸根,而右端有一个游离的 $3'$ -羟基)在一种方法研究中 Nirenberg 和 Leder 发现三核苷酸密码词汇有一专一的极性 (polarity) 或方向。例如 GUU 促进缬氨酸-tRNA_{Val} 的结合,而 UUG 促进亮氨酸-tRNA_{Leu} 的结合。因此, mRNA 密码子的读出或解码在一种专一的方向发生。当把低聚核苷酸 AAAUUU 作为一个信使来实验时,那么就可发现,它是赖氨酸-苯丙氨酸的密码,而不是苯丙氨酸-赖氨酸的密码。由于 AAA 是赖氨酸的密码,因此这种简单信使的读出是在磷酸化的 $5'$ 端开始的。就天然病毒的 RNA 来说,后面我们将知道关于按 $5' \rightarrow 3'$ 方向读出的更直接的生物学证据,因此 $5' \rightarrow 3'$ 的读出方向,同样可以认为是 DNA 和 RNA 股的生物合成的方向。

由于既可通过酶促方法,又可通过合成方法以合成已知碱基顺序的许多三核苷酸,因此,一旦确定了读出的方向,利用结合检验来确定密码词汇的碱基顺序就成为可能。在一定的已知顺序的三核苷酸参与下,通过测定那种氨酰基 tRNA 能专一地与核糖体结合, Nirenberg 和 Leder 很快就建立了许多氨基酸密码词汇的拼法。

另一种被证明特别有价值的方法是利用人工合成的多聚核糖核苷酸,特别是那些具有重复的二核苷酸或三核苷酸的多聚核糖核苷酸作为信使为多肽编码。如象

UCUCUCUCUCUCUC.....

具有重复的二核苷酸的人工合成的多聚核苷酸,含有 UCU 和 CUC 两种交替出现的三联体,必然会给一个含两种交替顺序的氨基酸的多肽的合成编码。事实确是这样,这种信使的确是为丝-亮-丝-亮-丝-亮等等交替出现的多肽编码。特别是三核苷酸的重复顺序给

出了特别有兴趣的结果。例如当使用重复的聚合物多聚 UUC 作为信使时，则产生三种不同的多肽—多聚苯丙氨酸，多聚丝氨酸和多聚亮氨酸。这种结果是根据多聚 UUC 可以按三种起点不同的方式来阅读这样一个事实得出的：

UUC-UUC-UUC-UUC-UUC-UUC

UCU-UCU-UCU-UCU-UCU-UCU

CUU-CUU-CUU-CUU-CUU-CUU

重复多聚体多聚 UAUC 产生一种酪-亮-丝-异亮顺序重复出现的多肽，这些和另一些结果列于表 34-2。

表 34-2 在无细胞的核糖体系统中对含有重复顺序的人工合成的多聚核苷酸的反应中氨基酸的掺入

重复的顺序	多聚核苷酸密码子	掺入的氨基酸
UC	UCU,CUC	丝氨酸,亮氨酸
AG	AGA,GAG	精氨酸,谷氨酸
UG	UGU,GUG	半胱氨酸,缬氨酸
AC	ACA,CAC	苏氨酸,组氨酸
UUC	UUC,UCU,CUU	苯丙氨酸,丝氨酸,亮氨酸
AAG	AAG,AGA,GAA	赖氨酸,精氨酸,谷氨酸
GAU	GAU,AUG,UGA	门冬氨酸,蛋氨酸
GUA	GUA,UAG,AGU	缬氨酸,丝氨酸
UAC	UAC,ACU,CUA	酪氨酸,苏氨酸,亮氨酸
UAUC	UAU,CUA,UCU,AUC	酪氨酸,亮氨酸,丝氨酸,异亮氨酸
UUAC	UUA,CUU,ACU,UAC	亮氨酸,苏氨酸,酪氨酸

H. G. Khorana 和他的同事们所收集到的有关这些重复多核苷酸信使的数据为检验从结合试验中所得到的结果，提供了独立的依据。这种结合试验在还有些人为的条件下测验密码子的专一性，留下了某些模棱两可的概念。在 Nirenberg 报道他的第一批实验之后不到四年就获得很快的进展，1965 年从 Nirenberg, Khorana 和 Ochoa 的实验室取得的结果结合起来得出了所有氨基酸密码词汇的生物化学鉴定。图 34-1 列出氨基酸密码词汇字典。

由于对天然信使 RNA 的核苷酸顺序和生物合成蛋白质的氨基酸顺序之间的对应性，进行了其它方面的观察，从而使图 34-1 中的氨基酸密码词汇得到了广泛的证据。我们在检查密码词汇的一般特征之后，将要讨论这种证据。

密码词汇字典的一般特征

遗传密码有四个特别值得注意的特征。第一，当然也是整个这场讨论中所假定的，无需用标点或符号以表示一个密码子的结束和第二个的开始。也就是说密码是“无逗点”的，因此阅读码组必须正确地从一个 mRNA 分子的读出起点开始，并且按顺序从一个三联体移到下一个，不然的话，所有密码子都将错号，结果形成一种氨基酸顺序被篡改过的蛋白质。这个事实着重说明 mRNA 中需要某种形式的唯一的信号来表示出核糖体必须开始读出的正确点。以后将讨论这些起始信号。

第二个主要特征是氨基酸密码是简并了的，即对大多数氨基酸而言，都有一个以上的

密码词汇。简并并不意味着不完善,因为还没有一种密码词汇规定一种以上的氨基酸。此外,氨基酸密码的简并有一些规律性,并且好象我们将要看到的那样,它还提供了生物学优点。

表 34-3 氨基酸密码的简并

	U	C	A	G	氨基酸	密码子数目
U	UUU 苯丙氨酸	UCU 丝氨酸	UAU 酪氨酸	UGU 半胱氨酸	丙氨酸	4
	UUC 苟丙氨酸	UCC 丝氨酸	UAC 酪氨酸	UGC 半胱氨酸	精氨酸	6
	UU A 亮氨酸	UCA 丝氨酸	UAA 终止	UGA 终止	门冬酰胺	2
	UUG 亮氨酸	UCG 丝氨酸	UAG 终止	UGC 色氨酸	门冬氨酸	2
C	CUU 亮氨酸	CCU 脯氨酸	CAU 组氨酸	CGU 精氨酸	半胱氨酸	2
	CUC 亮氨酸	CCC 脯氨酸	CAC 组氨酸	CGC 精氨酸	谷氨酰胺	2
	CUA 亮氨酸	CCA 脯氨酸	CAA 谷氨酰胺	CGA 精氨酸	谷氨酸	2
	CUG 亮氨酸	CCG 脯氨酸	CAG 谷氨酰胺	CGG 精氨酸	甘氨酸	4
A	AUU 异亮氨酸	ACU 苏氨酸	AAU 天门冬酰胺	AGU 丝氨酸	组氨酸	2
	AUC 异亮氨酸	ACC 苏氨酸	AAC 天门冬酰胺	AGC 丝氨酸	异亮氨酸	3
	AUA 异亮氨酸	ACA 苏氨酸	AAA 赖氨酸	AGA 精氨酸	亮氨酸	6
	AUG 蛋氨酸	ACG 苏氨酸	AAG 赖氨酸	AGG 精氨酸	赖氨酸	2
G	GUU 缬氨酸	GCU 丙氨酸	GAU 天门冬氨酸	GGU 甘氨酸	蛋氨酸	1
	GUC 缬氨酸	GCC 丙氨酸	GAC 天门冬氨酸	GGC 甘氨酸	苯丙氨酸	2
	GU A 缬氨酸	GCA 丙氨酸	GAA 谷氨酸	GGA 甘氨酸	脯氨酸	4
	GUG 缬氨酸	GCG 丙氨酸	GAG 谷氨酸	GCG 甘氨酸	丝氨酸	6

图 34-1 密码子字典,每一个密码子的第三个核苷酸(黑体)比头两个核苷酸的专一性低。按 5'→3' 方向读密码子。例如 UUA = \overrightarrow{pUpUpA} = 亮氨酸三个终止(末端)密码子 UAA, UAG, 和 UGA 以黑体表示,起始密码子是 AUG。

引人注意的是简并并不均一。因此丝氨酸和亮氨酸的密码有六次简并,即丝氨酸和亮氨酸各有六个密码词汇;而其它氨基酸如谷氨酸、酪氨酸、组氨酸以及其它几个氨基酸的密码却只有 2 次简并(表 34-3),所有氨基酸中仅色氨酸和蛋氨酸只有一个密码词汇。

第三个重要特征是:密码子的第三个碱基专一性较第一、二个低。从图 34-1 注意到密码的简并,在多数情况下(除精氨酸、亮氨酸、丝氨酸外)只涉及到密码子中的第三个碱基。例如丙氨酸是由三联体 GCU, GCC, GCA 和 GCG 来编码的;头两个碱基 GC 是所有丙氨酸密码子共用的,而第三个可以是任何碱基。此外,当两种不同氨基酸的密码词汇如果头两个碱基相同的话,那么一个密码子的第三个位置就只能由嘌呤来填补,而另一个密码子的第三个位置则只能由嘧啶来填补。例如,组氨酸的密码子(CAU, CAC)的第三个碱基是嘧啶 U 和 C,而谷氨酰胺的密码子(CAA, CAG)的第三个位置是嘌呤 A 和 G。密码表中所列出的几乎所有成对的氨基酸密码子,大部分是由三联体 XY_G^A 或 XY_C^U 所组成。某些氨基酸是由两个这样的对来编码的,另一些则由一个对编码。显然,每一个密码子的头两个字母是它的专一性的主要决定者。第三个位置,即在密码子 3'-羟基端的核苷酸是不太重要的,而且并不那样精确地适合,用 F. H. C. Crick 的话来说,它是不够严格的,有“摇摆”的倾向。

关于在密码子的位置 3 上，密码子-反密码子不严格或摇摆的碱基配对，一个可能的原因来自动力学研究。M. Eigen 曾经指出反密码子必不可与密码子粘附得太牢固，因为把密码子-反密码子复合物联在一起的氢键的解离速率会太慢，以致不能与蛋白质合成的已知的高速率相一致。只涉及到一个或两个核苷酸碱基配对的氢键应是相对地松弛的，因而专一性低，而当许多连续核苷酸残基与互补的核苷酸顺序进行碱基配对时，所形成的氢键，可能具有较高的专一性，但它将解离太慢，以致不能用于为蛋白质合成编码。显然，核苷酸的一个三联体既要最适宜于氢键的专一性，又要最适宜于密码子-反密码子相互作用中的形成和解离速率。可能这种摇摆碱基对于密码子-反密码子相互作用的专一性和动力学，提供精细的调节作用。

密码子的第四个特征是 64 个三联体当中有三个即 UAG, UAA, 和 UGA (图 34-1) 并不为任何氨基酸编码。如下面将会看到，这些三联体是多肽链终止的信号。

关于密码词汇派定的遗传学证据

虽然氨基酸的密码词汇原来是从分离的核糖体的体外生化实验中推导出来的，但是它们却在体内观察突变对专一性蛋白质氨基酸顺序的效应而充分证实，这种突变不仅有细菌中的诱导性的，而且还有人类中的自发性的。在单点突变中，基因上的一个碱基被另一个碱基所取代，常常导致一个氨基酸被另一个所取代。这点是可以预期的，因为每一个密码有三个残基，突变可以取代其中的任何一个。在许多情况下，一个核苷酸被另一个核苷酸所取代，将会为另一个不同的氨基酸产生一个新的密码词汇。我们现在知道人类血红蛋白 α 和 β 链的整个氨基酸顺序，而且我们还有在不同血红蛋白的突变中氨基酸置换的知识。在突变型血红蛋白中，氨基酸置换的一致性就使核对遗传密码成为可能。表 34-4 列出某些突变型人类血红蛋白的 α 链上所观察到的一些氨基酸的置换和它们的密码词汇，以及在这些部位上的正常氨基酸和它们的密码词汇。所有这些氨基酸的置换都可以在这样一个基础上加以解释，即在一个密码三联体中只有一个单核苷酸被改变。于是一个氨基酸的密码子变成另一个的密码子，大体上与体外用生化方法所阐明的密码词汇是一致的。例如，赖氨酸被谷氨酸所置换的情况下，赖氨酸密码子 (AAA 和 AAG) 中单个碱基变化就会产生一个谷氨酸的密码子 (GAA 或 GAG)。

表 34-4 人体突变型血红蛋白 α 链上某些氨基酸的置换，以黑体表示发生突变的碱基

正常的	突变型	碱基置换
赖氨酸(AAA)	谷氨酸(GAA)	A → G
谷氨酸(GAA)	谷氨酰胺(CAA)	G → C
甘氨酸(GGU)	门冬氨酸(GAU)	G → A
组氨酸(CAU)	酪氨酸(UAU)	C → U
门冬酰胺(AAU)	赖氨酸(AAA)	U → A
谷氨酸(GAA)	赖氨酸(AAA)	G → A
谷氨酸(GAA)	甘氨酸(GGA)	A → G

表 34-5 用亚硝酸诱导的烟草花叶病病毒外壳蛋白中某些氨基酸的置换。发生突变的碱基以黑体表示

野生型	突变型	碱基置换
脯氨酸(CCC)	丝氨酸(UCC)	C → U
脯氨酸(CCC)	亮氨酸(CUC)	C → U
异亮氨酸(AUU)	缬氨酸(GUU)	A → G
谷氨酸(GAA)	甘氨酸(GAA)	A → G
苏氨酸(ACA)	异亮氨酸(AUA)	C → U
丝氨酸(UCU)	苯丙氨酸(UUU)	C → U

在许多细菌和病毒蛋白中单点突变的结果都表明它与体外试验所建立的密码词汇完全一致。表 34-5 的数据表明在烟草花叶病病毒外壳蛋白的单点突变中所观察到的某些

氨基酸的置换。在突变效应的这种分析中已经发现密码子中几乎所有理论上可能的单碱基变化，并都与密码词汇字典完全一致。

移码突变提供了进一步肯定的证据。这种突变是由一个碱基缺失或者加进一个如象吖啶那样的嵌入诱变剂而产生的。这样的突变，使阅读码组移行，并从突变点到肽链的羧基末端产生一种完全篡改了的产物。如果这样一种突变较早发生在基因中，于是蛋白质的大部分都有缺陷，这种突变在多半是致命的。然而，假若这种突变较晚发生在基因中，即接近与多肽链羧基末端相对应的点，这种突变常常可被容许。将蛋白质缺陷的“尾部”的氨基酸顺序，与在这种情况下的正常羧基末端顺序进行比较，也能为密码词汇的成分和顺序提供肯定的证据。用双移码突变（缺失或加入二个碱基）这样一种更为精细的实验，也已证实这种字典。

关于密码词汇字典的进一步的和最有决定意义的生物学证据，将在本章后面讨论。

RNA 中的起始密码子和起始位点

虽然氨基酸类各别密码词汇之间不需要标点，但在适当点上还是需要专一信号以开始多肽链的起始，以便建立正确的阅读码组关系。我们已经知道 N-甲酰蛋氨酸是原核细胞的起始氨基酸，而蛋氨酸则是真核细胞的起始氨基酸。AUG 是原核细胞和真核细胞二者的起始密码子；GUG 是原核细胞中蛋氨酸的另一个起始密码子。虽然蛋氨酸有两个转移 RNA，但通常只使用它们当中的一个作为起始的 tRNA。

对于起始密码子的一致性的一个重要检验法是从另一类实验得来的。当用一种病毒 RNA 与核糖体一同培养时，发现它们并不一定从 RNA 5' 端开始翻译，而常常是在远离 5' 端的某一位点开始，这表明起始密码子 AUG 可能在 RNA 的内部一个位置上。在适当情况下，将核糖体与从 RNA 噬菌体 f2 分离出来的 RNA 结合就可查明这点，每分子 RNA 只结合一个核糖体。为了确定核糖体与 RNA 结合的部位，用胰脏核糖核酸酶消化，以除去病毒 RNA 的暴露部分。发现大约含有 30 个残基的被结合的 RNA 碎片，然后从核糖体释放出来。这样的碎片发现含有多肽合成的起始位点，并有大致位于这种碎片的中间的起始密码子 AUG。以为三种蛋白质编码的 R17 病毒分离出来的 RNA 进行类似的试验，鉴定出能与核糖体结合的三个起始点，每一个点含有起始密码子 AUG。

终止密码子

当一个天然信使 RNA 为蛋白质合成编码时，蛋白质从其羧基末端 tRNA 水解移除之后，完整的多肽链才以游离形式释放出来。但若以像多聚 U 这种人工合成的信使为多肽合成编码时，则新形成的肽链仍以多聚苯丙氨酰-tRNA_{phc} 形式附着于核糖体上，推测这是由于多聚 U 不含终止信号的缘故。

在研究不同的氨基酸的密码词汇派定时，发现其中三个密码子 UAG，UAA 和 UGA 不规定 20 种氨基酸中的任何一种。最初把它们称为“无意义”密码子，但最终确定它们为终止信号。这种结论，最初的例子是从确定突变给予这些三联体的后果或从这些三联体来的突变的后果的遗传实验中得来的。（图 34-2）当一个正常地规定某一氨基酸的密码子

受到突变以形成 UAG 时, 合成了一个肽链, 它就是在被突变了的密码子所规定的前面一个氨基酸残基上终止的。在氨基酸密码子当中, 能作为密码子 UAG 的突变前身物的, 有

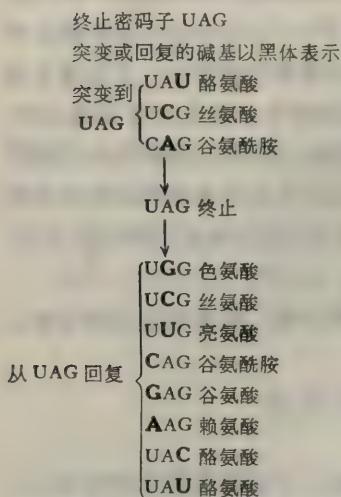


图 34-2 从突变到 UAG 和从 UAG 的回复来鉴定

丝氨酸 (UCG), 谷氨酰胺 (CAG) 和酪氨酸 (UAU 或 UAC)。这些密码子中的每一个都可以通过单个碱基变化(图 34-2)而转变为 UAG。一个肽链终止突变型的例子(对 UAG 的突变型常称为“琥珀”突变型)是大肠杆菌的 f2 RNA 噬菌体的 sus 13 突变型。野生型 f2 外壳蛋白是以氨基末端顺序 f 蛋-丙-丝-门冬酰-苯丙-苏-谷氨酰开始的。在 sus 13 琥珀型突变型中, 只合成了六肽即 f 蛋-丙-丝-门冬酰-苯丙-苏, 并以游离形式释放。然而在野生型 f2 中则合成了整个外壳蛋白质。由于下一个氨基酸谷氨酰胺的密码子 CAG 经突变成为 UAG, 所以得出结论: UAG 发出了肽链终止并以游离形式释放的信号。在没有这种突变的情况下, 下一个氨基酸谷氨酰胺, 将会引入而所产生的七肽, 也将以七肽基-tRNA_{Gln} 的形式保持附着状态。

其他遗传学实验已经证明, 那些造成不完全的, 并且过早释放蛋白质的肽链终止突变型, 在回复突变时, 可以回复到一种能够合成一种完整的蛋白质的形式, 不过在这种形式中一种氨基酸不一定与野生型蛋白质中相应的那一种氨基酸相同。在这种情况下, 肽链终止的密码子, 已经在一个单点突变中转变成一个能规定一种氨基酸的密码子, 但是, 如象图 34-2 所表示的那样, 这种氨基酸不一定是野生型蛋白质中存在的那种同样的氨基酸。从这种肽链终止突变型和它们的回复子, 鉴定了 UGA, UAG 和 UAA 为终止信号。这三个终止密码子使用的频率可能并不相等, 确实, 近年来的研究提示 UAA 是最普通的终止信号。

信使 RNA 的生物化学制图

大量关于天然 mRNA 分子中的密码顺序的重要情报涌现出来, 在这些天然 mRNA 分子中, 我们可以将 RNA 噬菌体的 RNA 包括在内, 因为在宿主细胞中它们是直接被用作信使的。已经对从大肠杆菌小 RNA 病毒中提纯的许多 RNA 进行了研究, 利用它们来测定 RNA 中密码子和被它们编码的蛋白质中氨基酸残基顺序之间的精确对应性。在这些病毒中, 有大肠杆菌的 R17 型。它的 RNA 大约有 3,500 个核苷酸残基, 其分子量约为 110 万, 并且为三种病毒蛋白质编码, 即 A 蛋白、外壳蛋白和一种 RNA 复制酶。R17 RNA 的某些大碎片的核苷酸顺序, 三种病毒蛋白的氨基-末端的氨基酸顺序, 以及外壳蛋白的大部分顺序经过剑桥大学 J. A. Jeppeson, J. A. Steitz, F. Sanger 和他们的同事的共同努力已经完成了。图 34-3 示出从结合了的核苷酸和氨基酸顺序的研究所推导出来的 R17 型 RNA 的遗传图和生物化学图谱。多肽链起始的地方, 即核糖体结合的位点, 是通

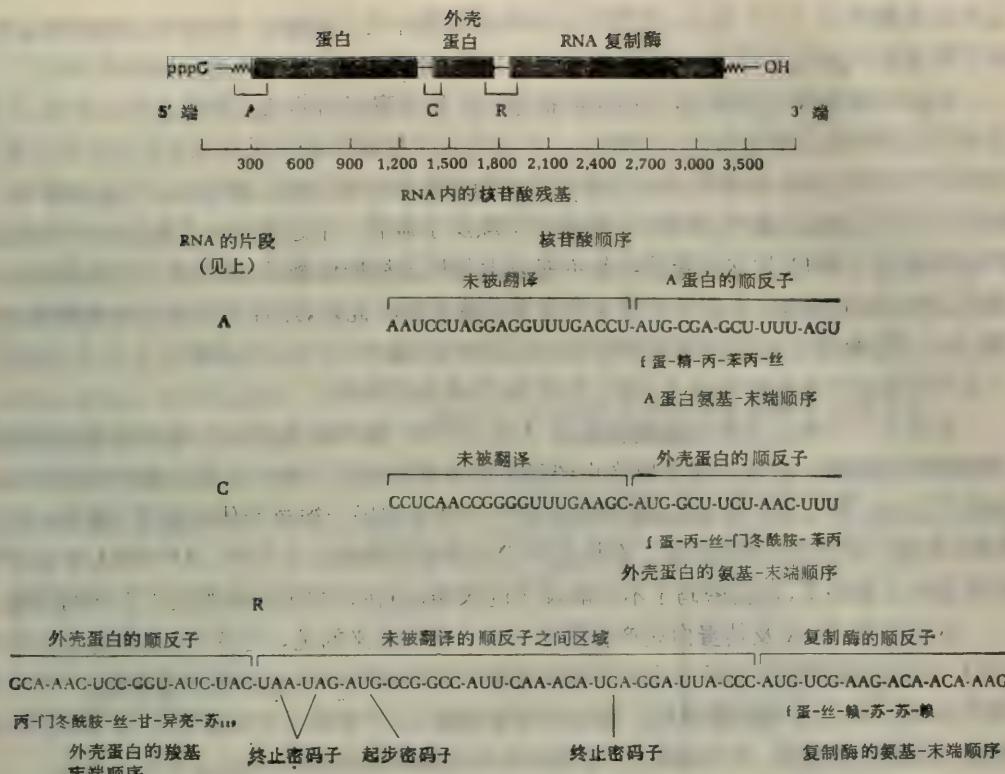


图 34-3 R17 型基因组的遗传学和生物化学图谱。它显示了以适当的顺序为三种蛋白质编码的 RNA 片段有四个未被翻译的区域，两个在 RNA 端，两个在顺反子间区域，AUG 是 A 蛋白、外壳蛋白和 RNA 复制酶的起始密码子；AUG 也出现在 R 处的顺反子间区域，但并不始动一条链。两个相继的终止密码子 UAA 和 UAG 到达外壳蛋白的顺反子的末端；UGA 也出现在未被翻译的顺反子间区域。[资料引自 P. G. N. Jeppesen and Colleagues, *Nature*, 226: 230 (1970), and J. L. Nichols, *Nature*, 255: 147 (1970)]

· · · (G)-AUA-GAG-CCC-UCA-ACC-CGA-CUU-UGA-AGC-AUC
 |————— 未被翻译的顺反子间区域 —————|.
 CCU-UCU-AAC-UUU-ACU-CAG-UUC-GUU-CUC-GUC-GAC-AAU-GGC-GGA-ACU-GGC-GAC-GUG-ACU-GUC-GCC-CCA-AGC-AAC-UUC
 丙 丝 门冬 苯丙 苏, 合 苯丙 缰 亮 缰, 门冬 门冬 各 甘 甘 苏, 甘 门冬 缰 苏 缰, 丙 肺 丝 门冬 苯丙
 丙酰胺 丝氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 甘氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 甘氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 亮氨酸
 GCU-AAC-GGG-GUC-GCU-GAA-UGG-AUC-AGC-UCU-AAC-UUC-GGU-UGA-CAG-CCU-UAC-AAA-GUA-ACC-UGU-AGC-GUU-CCU-CAG
 丙 酰胺 门冬 甘 酰胺 丙, 谷 色 异亮丝 丝, 门冬 丝 精 丝 谷, 丙 酰胺 缰 苏, 半胱丝 缰 精 合
 丙酰胺 丝氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 甘氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 甘氨酸 亮氨酸 亮氨酸 甘氨酸 亮氨酸
 ACC-UCU-GCG-CAG-AAU-GCC-AAA-UAC-ACC-AUC-AAA-GUC-GAG-GUG-GCU-AAA-GUG-GCA-ACC-CAG-AUC-GUU-GGU-GUA-
 丝 丝 西 谷 门冬 精 缰 一 酰 苏 异亮, 缰 缰 谷 肺, 缰 缰 丙 苏 谷酰 苏 缰 甘 甘 缰,
 GAG-CUU-CCU-GUA-GCC-GCA-UGG-CGU-UGC-UAC-UUA-AAU-AUG-GAA-CUA-ACC-AUU-CCA-AUU-UUC-GCU-AGC-AAU-UCC-GAC
 谷 亮 晴 缰 丙, 丙 色 精 丝 酰, 亮 酰胺 门冬 蛋 谷 亮, 苏 异亮 肺 异亮 苯丙, 丙 苏 门冬 丝 门冬
 UGG-CAG-CUU-AUU-GUU-AAG-GCA-AUG-CAA-GGU-GUC-CUA-AAA-GAU-GGA-AGC-AAU-ACC-CGU-AUC-GCA-AUC-GCA-GCA-AAC
 半胱亮 异亮 缰, 缰 丙 蛋 谷 甘, 亮 亮 缰 门冬 甘, 门冬 晴 异亮 肺丝, 丙 异亮 丙 丙 门冬
 UGG-GCC-AUC-UAC-UAA-UAG-ACG-CGG-GCC-AAU-CAA-ACA-UGA-GGA-UUA-CCC-AUG-UUG-AAG-ACA-ACA-AAG-AAG-(U)
 丝 甘 异亮 路, 未被翻译的顺反子间区域 | 丝, 缰 苏 苏 缰 缰

图 34-4 噬菌体 MS2 外壳蛋白顺反子的核苷酸顺序 ($5' \rightarrow 3'$ 方向) 和它的密码氨基酸顺序。将顺反子放在前面, 继顺反子之后是未被翻译的顺反子间区域, 其中的数字指的是外壳蛋白(1—129)和 RNA 多聚酶(1—6)中氨基酸残基的地位。这些数据表明最长的 RNA 和直至目前所阐明的相应的氨基酸顺序, 并提供了关于各种氨基酸发生复密码子的有价值的资料。他们还提供了另外一类生物学证据即在体外改建系统制出的遗传密码词汇是正确的。[引自 W. Min Jou, G. Haegeman, M. Ysebaert, and W. Fiers, *Nature*, 231: 83(1972)]

过先让核糖体与 RNA 结合，然后又让核糖核酸酶作用于核糖体-RNA 复合物来测定的。除了附着在核糖体上的 25—30 残基的节段以外，整个 RNA 都被核糖核酸酶所消化。

从这些和另外一些实验，已经能够推导出三种病毒蛋白的基因或顺反子的位置，以及在某个基因中核苷酸残基的大体数目。已发现三个核糖体结合位点全是在内部的。第一个顺反子是离 RNA 5' 端有 300 个核苷酸残基远的地点开始的，就是第一个起始密码子 (AUG) 所在之处。此外，RNA 3' 端继三个顺反子最后一个之后有一个超过 300 个残基的延续部分。RNA 的这些长端，都不能被大肠杆菌核糖体翻译，虽补充了所需要的一切因子；故这两末端的作用似乎不是为病毒蛋白编码的。此外，还有另外两个未被翻译的节段，其一，即 A-蛋白和外壳蛋白顺反子之间具有 25 或 25 个以上残基的一个节段，而另一个是外壳蛋白与复制酶顺反子之间，具有 36 个残基的片段。

所有这三个顺反子均以起始密码子 AUG 开始，随后就是为这三种病毒蛋白的氨基末端顺序编码的三联体。在寻找终止密码子中发现外壳蛋白顺反子是由两个相继的终止密码子 UAA 和 UAG 终止的，提示假如第一个终止密码子被核糖体错过了，或者未能识别时，还有一种失败-保险装置。在检查其它低聚核苷酸碎片中表明，R17 RNA 含有某些额外的终止密码子，这些密码子不在顺反子的末端，而在未被翻译的顺反子之间的区域。

对 R17 型 RNA 及其蛋白质产物的研究中，最有意义的是，它的 77 个密码子能够与 RNA 的部分和那些已有适合的顺序数据可资利用的多肽中的氨基酸残基相配。77 个密码子相当于 18 个不同的氨基酸。而在已知氨基酸 61 个密码子中已描述了 38 个，包括丝氨酸、缬氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、门冬酰胺和谷氨酸的全部密码子。

在比利时 W. Fiers 实验室的集体对密码子-氨基酸的对应性，进行了更为广泛的验证。他们比较了大肠杆菌病毒 MS2 的 RNA 核苷酸顺序和它的外壳蛋白的氨基酸顺序（图 34-4），这一研究以及对 RNA 病毒 FD2 的类似研究中，都再次表明存在一种与图 34-1 中所示的密码词汇字典的确切对应性。

不论是对原核有机体或是真核有机体的非病毒性的信使都很少有资料，它们都很难分离提纯。然而，血红蛋白的 α 和 β 链的信使 RNA 已分离成为高度纯化的形式。每一个信使 RNA，在其分子的两端都有一条长的未被翻译的核苷酸残基顺序；未被翻译的 3' 末端含有多聚 A 块片。

密码的普遍性

目前在图 34-1 中的遗传密码词汇视为具有生物学的普遍性的。如象上述实验所指出的那样，它们在大肠杆菌、烟草花叶病毒、人类和其它脊椎动物如兔子，以及大量的细菌病毒中，确实是相同的。这个问题从其它途径也被测试过。例如，将含有血红蛋白的 mRNA 的兔子网织红细胞核糖体与大肠杆菌的氨酰基-tRNA 和其它必需成分进行混合时，就形成血红蛋白链，表明大肠杆菌 tRNA 的反密码子能识别兔子血红蛋白的 mRNA 上的密码子。用一种物种的 tRNA 对另一种物种的密码子这样的交叉实验，也在大肠杆菌与豚鼠之间，以及滑爪蟾与其它种类之间进行过。在所有至今试过的物种中密码词汇都相同。然而对一定氨基酸使用不同密码词汇的频率可以随物种不同而异。这个事实提示，在进化发展或分化的过程中，包括了大多数氨基酸密码词汇的多样性。因此，对遗传密码的

简并问题还须要作进一步研究。

蛋白质中无密码的氨基酸的形成：翻译后的修饰

某些蛋白质在其肽键中，含有无遗传密码词汇的氨基酸。例如，胶原蛋白中含有羟脯氨酸和羟赖氨酸，某些肌肉蛋白质含有 N-甲基赖氨酸，弹性蛋白含有锁链素和异锁链素，糖原磷酸化酶含有磷酸丝氨酸，而凝血酶原含有 γ -羧基谷氨酸。这些没有密码词汇的氨基酸常常都是那些具有密码词汇的氨基酸的衍生物。这些不寻常的氨基酸，都是从对它们的专一三联体密码作出反应，而已经插入到多肽链中以后的母体氨基酸经酶促作用生成的。例如，羟脯氨酸就是在胶原的形成中通过脯氨酸单加氧酶对脯氨酸残基的酶促羟化形成的。

反密码子的鉴定： 密码子-反密 码子配对

随着不同氨基酸的密码子的鉴定，很自然要以同样的努力去鉴定它们的在 tRNA 中相对应的反密码子。通过对 tRNA 的顺序分析（表 34-6）已鉴定了许多反密码子，从这些数据中可得到两个结论，密码子及其相应的反密码子是在相反向平行的方向配对的；我们早已知道核苷酸股的反向平行方向是在 DNA 复制过程中和它转录成 RNA 的过程中的规律。密码子和反密码子习惯上如象所有多核苷酸那样，是按 $5' \rightarrow 3'$ 方向被抄写的，但是，我们必须注意记住，当氨酰基-tRNA 结合到它们的 mRNA 的密码子时，它们都按反向

表 34-6 在 tRNA 中发现的一些反密码子（黑体）以及它们相应的密码子（白体）。

注意在第三位上的简并，或“摇摆”，大多数的密码子的位置和在与“摇摆”位置配对的反密码子中的次要碱基的出现

氨基酸	反密码子-密码子配对 [†]	氨基酸	反密码子-密码子配对 [†]
丙氨酸	CGI U GCC A 5' →	谷氨酸	CUU _{s²} GAA
门冬氨酸	— CUG CA ^C U 5' →	赖氨酸	UUC AAG
精氨酸	— CC ^I A CG U C → — GCG CGC → — CCC GG ^C U 甘氨酸	苯丙氨酸	AAC UU ^C U UCU C → — AGI A UCU C → — 酪氨酸
	— CCC GGG → — CCU GG ^A G →	丝氨酸	AGG A UAU C → — CAU _{o^a} A GUC U →
		缬氨酸	

[†] U_{s²} = 2 硫尿嘧啶核苷 ψ = 假尿嘧啶核苷

U_{o^a} = 尿苷 5'-氧乙酸 I = 肌苷

平行的方式配对。

第二个结论是许多反密码子含有与所预想的 A、G、C 和 U 不同的核苷残基。特别是经常发现次黄嘌呤核苷酸残基（次黄嘌呤核苷酸是脱氨的腺嘌呤核苷酸残基，标为 I）代替了预期的腺嘌呤核苷酸残基。还发现的有假尿嘧啶核苷 (ϕ)，2'-O-甲基鸟苷，2-硫尿苷，4-乙酰基胞嘧啶核苷以及 2'-O-甲基胞嘧啶核苷。这些次要的核苷几乎经常发现在反密码子的 5' 端、即与密码子 3' 末端上核苷配对的那一端。因此反密码子的次要碱基，常与密码子的三个残基中专一性最差的即受到摇摆的那个配对。于是从 5' 到 3' 位置阅读的密码子的头两个密码子的碱基，与反密码子最后的两个碱基的配对是“紧密的”，而且是明确的，而摇摆的碱基对则允许有些含糊。事实上，腺苷从来不会存在于反密码子的摇摆部位。它似乎是被次黄嘌呤核苷所取代。

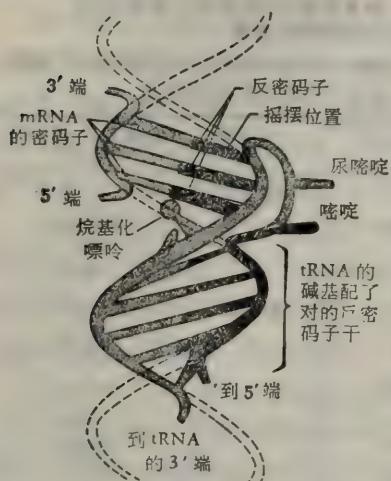


图 34-5 mRNA 中的密码子碱基(左上浅灰色)和 tRNA 中的反密码子(中间黑色部分)碱基之间的配对示意图。含有大量的碱基对的反密码子杆及反密码子圈以右边黑色表示。密码子-反密码子对在它们的方向上是反向平行的，而且可以认为是一种双螺旋的短区段。[引自 W. Fuller and Hodogson, *Nature*, 215: 817 (1976)]

有趣概念。首先，密码的普遍性启示，在生物进化过程中它仅仅发生过一次。由于化石证据表明，早在 33 亿年前就存在着类似现代细菌的原核有机体，所以看来很可能在那时候，现在的遗传密码就已在起作用。专一性在很大程度上取决于密码词汇的头两个字母，这一事实曾解释为密码词汇可能曾经是为一组 16 个“原始”氨基酸或 15 个氨基酸加一个终止密码子编码的二联体(表 34-7)。这样一种二联体密码可能被使用每逢第三个核苷酸作为逗点。很可能后来出现一组“新”的氨基酸，也许包括门冬酰胺、谷氨酰胺、蛋氨酸、酪氨酸和色氨酸，这些氨基酸才需要三联体给他们编码。这类新三联体的第三个核苷酸可能来自原始二联体密码中作为逗点使用的符号。这种概念从 T. H. Jukes 所指出的事实得到某些支持，即许多现仍生存的古代细菌种类如厌氧梭状芽孢杆菌的铁氧还蛋白只含有 13 种不同的氨基酸。这些细菌的铁氧还蛋白是很小的蛋白质[55 个残基]，而且含有两个同源的一半，显然，这是与只有 28 个氨基酸残基相对应的一个小基因的成双的结果。然而

从模型建造实验已推论出：密码子-反密码子配对的空间构型几乎是和双螺旋的 RNA(图 34-5)中的一节段上所发生的密码子与反密码子配对的空间构型是一样的。这样看来，密码子与反密码子彼此之间在空间意义上讲来是最互相适合的。

密码子与反密码子之间的另一有意义的关系，是与 tRNA 第 40 位上的残基有关，就是紧接着反密码子后面的残基(图 33-5)。这个残基经常是嘌呤。而且在许多 tRNA 上它有一个长的异戊烯侧链而且是甲基化了的。这些侧链似乎参与密码子与反密码子的相互作用，并明显地提供额外的结合力。某些具有异戊烯侧链的嘌呤在植物中具有激素活性。这样的化合物称为细胞激动素(图 33-7)，能刺激细胞分裂。

氨基酸密码的进化

已经出现了一些关于遗传密码的起源和发展

高等动物的铁氧还蛋白比较大，而且含有较多种氨基酸。这就提示：在生物进化后期过程中获得了“新”的氨基酸。Jukes 还为精氨酸的原始前身物是鸟氨酸提供了证据，后者是不存于今天的蛋白质中的一种氨基酸。精氨酸是鸟氨酸的一种衍生物，并不存在于大多数古老的蛋白质如梭状芽孢杆菌的铁氧还蛋白中的，它可能是接收了较简单的鸟氨酸的密码子。

表 34-7 一种假设的原始二联体密码

假设第三个位置是由作为逗点的碱基占领；在二联体密码进化到三联体密码的过程中，这些逗点可以转变为允许 15 个以上的氨基酸被编码的密码符号；这样一个假说与现在的三联体密码中的第三个位置的摇摆和简并是一致的。

原始氨基酸	二联体密码子	在第三个位置上的增加物	“新”氨基酸
赖氨酸	AA	C 或 U	门冬酰胺
苏氨酸	AC		
丝氨酸	AG		
异亮氨酸	AU	G	蛋氨酸
组氨酸	CA	A 或 G	谷氨酰胺
脯氨酸	CC		
精氨酸	CG		
亮氨酸	CU		
门冬氨酸、谷氨酸	GA		
丙氨酸	GC		
甘氨酸	GG		
缬氨酸	GU		
终止	UA	C 或 U	酪氨酸
丝氨酸	UC		
半胱氨酸	UG	G	色氨酸
苯丙氨酸	UU		

遗传密码的简并是使它具有幸存价值的一个特点。如果每种氨基酸只有一个密码词汇，则在可能的 64 种密码子中将只被用到 20 种，而编码三联体的绝大多数点突变将会在不为任何氨基酸编码的三联体上产生。另一方面，由于密码的简并，一个突变在多数情况下引起一个同义语三联体的形成，或者一种氨基酸被另一种氨基酸取代，常常产生一种不活动突变，即一个功能未变的基因产物。因此密码的简并容许一个突变型蛋白质的形成，这种蛋白常会继续起作用，甚至实在比野生型有机体中的蛋白质更好。因此，密码的简并容许基因组和它的基因产物逐渐地“改进”；它允许通过突变可以出现各种不同的氨基酸的取代，从其中可以选择出最有幸存价值的取代。由于最常发生的突变涉及 A-G 或 C-T 交换，当这种交换发生在第三个位置时，通常并不影响到被编码的氨基酸，还可以认为，密码的简并在稳定基因组，防止突变上具有保护价值。

另一个有趣而又很重要的特征是具有相似 R 基团的氨基酸的密码词汇之间的相互关系。例如具有 U 作为第二个字母的所有密码子，都属于具有非极性或者疏水性侧链的氨基酸（苯丙、亮、异亮、蛋、缬）。极相似的氨基酸如丙氨酸和甘氨酸的密码子，只含有 C 和 G 作为第一或第二个字母。而且带负电荷的氨基酸如门冬氨酸和谷氨酸，二者都有 GA 作为它们的头两个字母。从丝氨酸、苏氨酸、和半胱氨酸这些结构上相似的氨基酸之间，都可以观察到相似的但较少专一性的相互关系。已经提出，专一的密码词汇的产生是由于与它相对应的氨基酸的结构的或空间的互补性的缘故。然而支持这种假说的证据还不很清楚。

尽管遗传密码具有普遍性，然而 DNA 中四个碱基的比例，随物种而变化很大。比如各种细菌 DNA 中无论那个都含有从 30% 到 70% 不等的 G-C 对。所以那些 G-C 含量高的细菌比 G-C 含量低的细菌更频繁地利用那些在第三个位置既可是 G 又可是 C 的密码子。虽然 G-C 含量高的 DNA 对紫外线产生的突变有更多的抵抗，然而对这些显著变异的原因并不清楚。对遗传密码进化这个可能是生命起源中一个核心问题的其它评论，将在别处进行。（第三十七章）

摘 要

从数学方面来考虑，从对病毒的结构研究，以及早期遗传学的实验研究，都认为氨基酸的密码词汇在没有逗点的信使 RNA 中是连续核苷酸的三联体。这个结论由对核糖体的直接生物化学实验所证实。

用已知碱基组成的多聚核糖核苷酸，以培养事先耗竭了依附的信使 RNA 的大肠杆菌核糖体，然后通过测定掺入到多肽上的标记了的氨基酸的身份，推论出为各种氨基酸编码的三联体的核苷酸的组成。

每个密码子的碱基顺序是从以下实验推断出来的：(1) 在没有 GTP 的情况下，从已知碱基顺序的核苷酸三联体，对于各种被标记的氨酰基-tRNA 与核糖体结合的效应的实验，(2) 从用含有重复的碱基二联体与三联体组成的人工合成的信使模板所合成的多肽的氨基酸顺序的实验。用这样一些体外生物化学实验所鉴定的密码子，已在人类血红蛋白的突变体，病毒蛋白的单点突变体，以及移码突变体中所观察到的氨基酸的取代所证实。

氨基酸密码的简并：除了色氨酸和蛋氨酸以外，所有氨基酸都有多种密码词汇。简并通常是在密码子的第三个位置，即在它的 3' 端；在这个位置上的核苷，其专一性比第一和第二个位置上的弱得多。肽链是从密码子 AUG 起始的，在原核生物中 AUG 是为起始的 N-甲酰蛋氨酸编码的，而在真核生物中则为蛋氨酸编码。三联体 UAA, UAG 和 UGA 不为任何氨基酸编码，而是肽链的终止信号。UAA 大概是正常肽链的终止区。遗传密码几乎无疑有普遍性。

大多数氨基酸的多重密码词汇，以及起始和终止密码子为生物所使用，这已经被直接以 R17, f2 及 MS2 病毒的 RNA 的核苷酸顺序，与它们的以生物学方法生成的蛋白质产物的氨基酸顺序加以比较而广泛地证实了。密码子是沿着 mRNA 链按 5'→3' 方向阅读的。大多数 tRNA 中的反密码子也得到了鉴定；许多反密码子含有次要的核苷酸。反密码子是通过氢键按反向平行的方向与它们的密码子碱基配对。密码子 3 位置和反密码子的 1 位置之间的碱基配对比较松散，而且摇摆。蛋白质中无密码的氨基酸衍生物，如羟脯氨酸和羟赖氨酸是从它们被编了码的亲代氨基酸在肽链完成之后通过次级酶促反应形成的。遗传密码的进化是生物学上的一个核心问题。

参 考 文 献

书籍

- Davidson, J. N.: *The Biochemistry of Nucleic Acids*, Academic, New York, 1972.
The Genetic Code, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., vol. 31, 1966. A collection of reviews and

- articles on the experimental basis of the amino acid code words.
- Jukes, T. H.: *Molecules and Evolution*, Columbia University press, New York, 1966. A theory of the evolution of the genetic code.
- Stent, G. S.: *Molecular Genetics*, Freeman, San Francisco, 1971. An excellent account of the genetic approaches to the amino acid code words.
- Stewart, P. R., and D. S. Letham (eds.): *The Ribonucleic Acids*, Springer, New York, 1973.
- Woese, C. R.: *The Genetic Code*, Harper & Row, New York, 1967. The origin and evolution of the code.
- Yeas, M.: *The Biological Code*, North-Holland, New York, 1969. The history of research on the genetic code, with complete references.
- Zubay, G., and J. Marmur: *Papers in Biochemical Genetics*, Holt, New York, 1968. Reprinted classic papers. A second edition has also appeared.

论文

- Crick, F. H. C.: "Codon-Anticodon Pairing: The Wobble Hypothesis," *J. Mol. Biol.*, 19: 548—555 (1966). The structural explanation of the play, or wobble, in the fit of the third nucleotide of a codon.
- Crick, F. H. C.: "The Origin of the Genetic Code," *J. Mol. Biol.*, 38: 367—379 (1968). The biological evolution and logic of the code.
- Ghosh, H. P., D. Soll, and H. G. Khorana: "Studies on Polynucleotides; LXVII: Initiation of Protein Synthesis *in Vitro* as Studied by Using Ribopolynucleotides with Repeating Nucleotide Sequences as Messengers," *J. Mol. Biol.*, 25: 275 (1967). Use of repeating or block polymers of ribonucleotides as synthetic messengers.
- Jeppesen, P. G. n., J. L. Nichols, F. Sanger, and B. G. Barrell: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 35: 13 (1970). The biochemical map of the R17 genome.
- Lacey, J. O., and K. M. Pruitt: "Origin of the Genetic Code," *Nature*, 223: 799—804 (1969). One view of the structural relationship of the code words to the amino acids.
- Nin Jou, W., G. Haegeman, M. Ysebaert, and W. Fiers: "Nucleotide Sequence of the Gene Coding for the Bacteriophage MS2 Coat Protein," *Nature*, 237: 82—88 (1972). The correspondence between the code words in a viral RNA and the amino acid sequence of one of its translation products.
- Nirenberg, M. W., and P. Leder: "RNA Codewords and Protein Synthesis," *Science*, 145: 1399—1407 (1964). The binding assay: the sequence of bases in amino acid codons.
- Nirenberg, M. W., and J. H. Matthaei: "The Dependence of Cell-Free Protein Synthesis in *E. coli* upon Naturally Occurring or Synthetic Polyribonucleotides," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 47: 1588—1602 (1961). Classic paper showing dependence of ribosomes on RNA messengers and coding of polyphenylalanine by poly U.
- Stenflo, J., P. Fernlund, W. Egan, and P. Roepstorff: "Vitamin K-Dependent Modifications of Glutamic Acid Residues in Prothrombin," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 71: 2730—2733 (1974). An account of the origin of γ -carboxyglutamic acid residues in prothrombin.

习题

- 假定每一条肽链开始于左侧的三联体，试预测由于核糖体对下列信使的反应所形成的肽的氨基酸顺序。
 - GGUCAGUCGCUCCUGAUU
 - UUGGAUGCGCCAUAUUUGCU
 - CACGACGCUUGUUGCUAU
 - AUGGACGAA
- 在突变型蛋白质中,如果它们是由于单点突变引起的,则下列氨基酸取代中有哪几种与遗传密码相符合?如果任何一种不相符合,说明为什么。
 - 苯丙氨酸 → 亮氨酸;
 - 异亮氨酸 → 亮氨酸;
 - 丙氨酸 → 苏氨酸;
 - 脯氨酸 → 丝氨酸;
 - 赖氨酸 → 丙氨酸;
 - 组氨酸 → 谷氨酸;

(g) 苯丙氨酸 → 赖氨酸。

3. 利用表 5-5 和图 34-1 中关于异常血红蛋白 α 链的资料, 说明每种突变是转换还是颠换。假定所有突变都是单点碱基替代。

4. DNA 的一股上含有下列顺序, 从 5' 向 3' 方向阅读:

T-C-G-T-C-G-A-C-G-A-T-G-A-T-C-A-T-C-G-G-C-T-A-C-T-C-G-A

试写出 (a) DNA 另一股上的碱基顺序; (b) 从 DNA 第一股转录出来的信使 RNA 的碱基顺序, (c) 在 (b) 中由 mRNA 编码的氨基酸顺序; (d) 如果从 DNA 的 3' 端的第二个 T 已缺失, 为此编码的氨基酸顺序。

5. 一种野生型细菌(株 1)的蛋白 A, 在 26 位上有一个色氨酸残基。由株 1 经突变得到的株 2 在 26 位上含有亮氨酸。株 2 的突变产生株 3, 在株 3 中没有检出新的突变型蛋白 A。株 3 的突变产生株 4, 它在 26 位上含有脯氨酸。(a) 假定所有突变是碱基替代, 而且亲株和子株在蛋白 A 的残基 26 的密码子中相差不超过一个碱基, 这些观察是否与遗传密码一致? (b) 说明在这一系列突变中密码子改变的进程。

6. 从含有 A 残基比 C 残基多 20 倍的一种混合物合成一种人工合成的多聚 AC 链。这种链随后用胰核糖核酸酶裂解, 把产生的低聚核苷酸碎片的混合物用作人工合成的信使 RNA。(a) 假定这种 mRNA 常常按 5' → 3' 方向阅读, 并假定多肽链常常是从 N-末端开始合成的, 试问在上述低聚核苷酸碎片的混合物翻译之后, 在所生成的肽的绝大多数中的 N-末端上是什么氨基酸? (b) 所生成的大多数肽链的 C-末端上又将存在什么氨基酸?

7. 一种野生型细菌蛋白质有缬氨酸作为它的 C-末端氨基酸。从亲代株分离出两个分开的单点碱基突变型, 它们的 C-末端氨基酸分别是丙氨酸和异亮氨酸。从含有 C-末端的丙氨酸的株经过另一个单个碱基突变产生一种 C-末端含有一个谷氨酸残基的蛋白质。试推论出野生型亲代株为缬氨酸编码的密码子。

8. 用任意选的多聚体多聚 AG 培养已被耗竭了它们的内源信使 RNA 的大肠杆菌核糖体, 其中克分子比率 A:G 是 5:1。试推测由这样一种多聚体掺入到了那些氨基酸之中以及它们掺入的相对频率。

9. mRNA 的一片段为肽链蛋氨酸-苏氨酸-苯丙氨酸-异亮氨酸-色氨酸编码, 原黄素(proflavin)诱导了为这种 RNA 编码的基因上的一个单碱基的耗竭。从改变的 RNA 翻译出的新肽链是蛋氨酸-脯氨酸-丝氨酸-酪氨酸-甘氨酸。试问 (a) 在什么密码子中发生耗竭? (b) 在始源密码子的什么位置是被耗竭的碱基? (c) 在野生型 mRNA 中的碱基顺序是怎样的? (d) 如果在突变的 RNA 顺序上的头三个碱基之后插进一个 G 的话, 那么所产生的氨基酸顺序将是怎样的?

[李俊成译 任邦哲校]

第三十五章 基因表达的调节

现在我们来讨论另一个基本问题，即有关遗传信息从 DNA 传向蛋白质的问题。在细胞内究竟如何调节遗传信息的表达来合成正确种类的蛋白质和每种蛋白质适当的复本数呢？

活细胞一定具备精确的程序机制，从而调节所合成的各种蛋白质的相对数量，这是十分明显的。例如可以预期；催化一主流代谢途径的那些酶分子数比催化那些仅有微量存在的辅酶的生物合成的酶分子数要多得多。但是让我们来审查一些实际的数据。大肠杆菌细胞大概含有 3,000 种不同蛋白质的基因。如果假定全部蛋白质都有相同的分子量，而且所有以等量被制造出来，那么大肠杆菌细胞内每一种蛋白质大概会有 3000 个复本。然而不同类型的蛋白质其复本数变动范围显然很大。一个野生型大肠杆菌细胞大概含有 15,000 个核糖体，因此 50 个或更多个核糖体蛋白质个个都有 15000 个左右的复本。某些酶，特别是糖酵解过程中的酶，可以有 100,000 或更多个复本。另一方面， β -半乳糖苷酶，正常时在每个细胞中只有 5 个左右的复本。此外，某些蛋白质的产量是固定恒量的，例如糖酵解过程中的蛋白质，而另一些蛋白质的浓度则随着环境中某些营养物利用程度的改变而发生急剧的改变。因此酶合成速率的调节为每种类型的细胞提供它们基本管理活动中所需的适当酶系，而且还使细胞在合成不经常动用的酶类时有可能节约使用氨基酸。

在真核生物中蛋白质生物合成的调节还有另一个基本作用，即充当细胞分化的载体。高等有机体中不同类型的细胞具有性质不同的超微结构、分子组成和生物学功能。这些差别部分是由于所有细胞除了有一整套催化主要代谢途径的基本酶类之外，还合成各种独特的专一的一组组酶类的结果。高等有机体的组织还有一组组不同的和/或数量不等的其他类型的特殊蛋白质，例如在胶原纤维中的、微管中的、肌动蛋白和肌球蛋白细丝中的和膜转运系统中的蛋白质。而且高等有机体在分化时，各种不同蛋白质的生物合成出现的时间和顺序必然也受到精确的程序控制。

遗传学和生物化学的研究已经产生了许多重要的资料和调节原核细胞中蛋白质合成的一套原理。然而在真核细胞中基因表达的调节比细菌中要复杂得多，还没有详细了解；这就提出了在当代生化研究中最吸引人的和重要的挑战。

蛋白质生物合成至少在二个水平上进行调节：其一是转录的控制，即调节 DNA 的转录，来产生给某一蛋白质或某一组蛋白质编码的 mRNA。另一水平是翻译的控制，即调节多肽链的起始和合成速率。

本章中拟首先稍为详细地审核细菌中基因表达的调节，然后简略地叙述真核有机体领域内涉及到的某些生化原理和问题。

细菌中的组成酶和诱导酶

关于微生物中影响酶合成的一些因子，早期研究提出了一种假设，即认为有二类酶，

在不同的代谢条件下，这二类酶的出现和浓度都不一样。组成酶是以恒定速率和恒定数量生成的那些酶类，和有机体的代谢状态无关。组成酶被认为是细胞的常备的基本酶机构的一部分，例如糖酵解序列即最古老的产能的分解代谢途径中的许多酶。另一类由诱导酶组成。在某些种类的细菌细胞中，正常时只存在痕迹量的诱导酶，但当培养基中有酶的底物时，酶的浓度即能迅速增长一千多倍，尤其当这种底物是细胞唯一的碳源时。在这些情况下，需要诱导酶将底物转化为细胞能直接利用的代谢物。诱导酶的典型例子是 β -半乳糖苷酶。如果有葡萄糖可资利用，野生型大肠杆菌细胞是不利用乳糖的（图35-1），如上所述，将乳糖水解成葡萄糖和半乳糖所需要的 β -半乳糖苷酶，在这些细胞内只含有五个左右的复本。然而如果将野生型大肠杆菌放入只有乳糖作为唯一碳源的培养基中，那么这些杆菌开始并不能利用乳糖，但1—2分钟内他们就有反应就合成大量的 β -半乳糖苷酶，达到每个细胞有5000个复本。诱导出的 β -半乳糖苷酶将乳糖水解成能被直接用作燃料和碳源的产物。如果现在把被诱导的细胞转移到只含葡萄糖而不含乳糖的新鲜培养基里去时，则 β -半乳糖苷酶的进一步合成就立即停止。先前诱导出的半乳糖苷酶的活性迅速降低到正常时非常低的水平。因此酶的诱导使有可能节约使用氨基酸和代谢能量：诱导酶只有当需要时才产生。

当 β -半乳糖苷被加至大肠杆菌细胞时，不但诱导了 β -半乳糖苷酶的形成，而且还诱导另二个机能上有关联的酶，即 β -半乳糖苷透性酶和 β -硫代半乳糖苷乙酰基转移酶的形成。前一种酶是大肠杆菌细胞膜的一种蛋白质，能促使 β -半乳糖苷逆浓度梯度而进入细胞；后一种酶的功能还不完全清楚，可能被用在细胞内的硫代半乳糖苷的利用的某一阶段中。象上述由单个诱导因子诱导一组有关的酶类或蛋白质类的例子那样，这种作用称做协调诱导。在一系列制订遗传图谱的重要实验中 J. Lederberg 和他的同事们证明 β -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷透性酶和 β -硫代半乳糖苷乙酰基转移酶的三个基因在大肠杆菌基因组内可能按上列顺序互相毗邻。

细菌中有些种类对许多不同的底物产生诱导酶的能力非常特殊，这些底物当中有许多似乎是生理性的。假单胞菌属的一种可以应答几百种不同的作为唯一碳源的有机化合物，形成许多酶

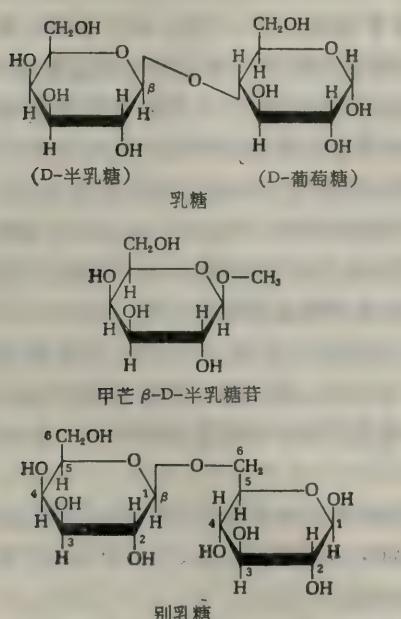


图35-1 β -半乳糖苷酶的底物。别乳糖，是 β -半乳糖苷酶的正常生理诱导物，由D-乳糖形成。

类。由于这个原因，早期研究者认为底物分子的存在可帮助“塑造”或“使适应”酶前体的活性部位，从而多种不同的酶活性可以从单个蛋白质前体形成。虽然现在已经知道这种概念不正确，但最初将诱导酶称为“适应酶”就是根据这个事实。

酶的阻遏

细胞内酶浓度的另一种类型的重要变化是酶的阻遏，看上去和酶诱导中观察到的变化正好相反。当大肠杆菌细胞在只有铵盐作为唯一氮源的培养基上生长时，它们必须从 NH_4^+ 离子和一种碳源形成它们的全部含氮成分。这些细胞含有一切必要的酶类来合成蛋白质合成时所需要的20种不同氨基酸。然而，如果在培养基中加入其中一种氨基酸，例如组氨酸，那么从氨和一种碳源合成组氨酸所需的酶系即迅速自细胞中消失。这一效应被称为酶的阻遏。阻遏也是细胞经济学原则的反映：当组氨酸生物合成所需的酶系不再需要时，那就不再形成。大多数的酶阻遏情况都包括参与生物合成反应的酶系。在刚才描述的情况下，当组氨酸加至培养基中时，不只是导致组氨酸形成系列中最后一个酶被阻遏。实际上在这些环境中，组氨酸生物合成的全部酶系都被阻遏了。催化一系列连续生物合成反应的一组酶系的合成受阻遏，就称为协调阻遏 (co-ordinate repression)。协调阻遏通常由被阻遏酶系所催化的一系列生物合成反应的终末产物所引起。由于这个原因也被称为终末产物阻遏。

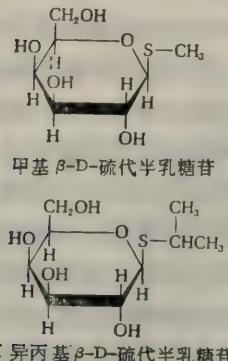
降解产物阻遏

然而在细菌中也常见到另一种类型的酶的阻遏，它起着阻遏降解代谢酶系的作用。一般的意见认为对大多数细胞是最直接的燃料来源的葡萄糖能够抑制许多诱导酶的形成，正是这些诱导酶使细胞有可能利用其他一些燃料分子。我们早已看到，当培养基中有葡萄糖时，即使有乳糖存在， β -半乳糖苷酶的形成也受到阻遏。在这些情况下，优先利用葡萄糖作燃料，并不动用乳糖。但葡萄糖也阻遏早先被当成组成酶的一些酶。例如，葡萄糖的存在能够阻遏呼吸和电子传递的某些酶系，可能因为有容易发酵的燃料供应存在，就使兼性细菌细胞没有必要使用更复杂的呼吸途径了。于是，可利用葡萄糖作燃料时，细菌就优先使用最原始的降解代谢途径，即糖酵解或发酵途径，它们并停止其他所有的产能降解代谢途径。因为这种效应的信号可能来自细胞内葡萄糖或一些由葡萄糖衍生出来的降解产物的含量增高，所以这种类型的酶阻遏就被称为降解产物阻遏。下面将讨论其机制和调节作用。

调节基因、结构基因和阻遏物

酶的诱导和酶的阻遏开始时被认为是完全不同的过程，它们之间的分子的和遗传的关系，由于巴黎巴斯德研究院的 J. Monod 和 F. Jacob 及其同工作者对在大肠杆菌细胞中 β -半乳糖苷酶活性的诱导的遗传学和生物化学研究而弄清楚了。这些研究开始于二十世纪四十年代后期，大约经过了 15 年，最后就对在原核生物中蛋白质合成的遗传控制得到了一个普遍性的假设，以后已经被直接的生化实验所证实。那个时期有三个重要的早期发现准备了条件。一个是发现了 β -半乳糖苷酶不仅可被该酶能水解的 β -D-半乳糖苷，如乳糖或甲基 β -D-半乳糖苷等所诱导，而且也可被该酶不能水解的一些 β -半乳糖苷，如

甲基 β -D-硫代半乳糖苷(甲基 β -D-半乳糖苷的硫结构类似物,图 35-2)所诱导。其实,甲基 β -D-硫代半乳糖苷被认为诱导 β -半乳糖苷酶的形成甚至比该酶的正常底物更为有效。这一发现指出酶的诱导过程可以同那些涉及诱导酶反应产物的随后代谢中的一些事件区分开来。用一专一的不受酶作用的物质来诱导酶的活性就称为安慰诱导。



第二个重要的观察是在某些大肠杆菌突变型中细胞在对其诱导物的应答中不能形成 β -半乳糖苷酶,但仍保留了对它们特殊的诱导物的应答中形成其他种类诱导酶的能力,因此形成任何已知的可诱导的酶的能力都取决于一个专一的基因。这类发现显然埋葬了较陈旧的适应假说。即“塑造”一个共同的蛋白质前体就能够形成各种诱导酶。

第三个关键性的观察是发现了另一类大肠杆菌的突变型。这些突变型虽然从来都没有接触过诱导剂 β -半乳糖苷,却含有大量 β -半乳糖苷酶的活力。这样的突变型被称为组成突变型,因为它们活动时就好像 β -半乳糖苷酶是一种组成酶而不是诱导酶一样。

根据这些观察和另一些基本的观察,Jacob 和 Monod 推断大肠杆菌遗传图上有三个不同的座位(locus)影响 β -半乳糖苷酶的形成,这些座位被命名为 i 、 i 及 σ (图 35-3)。 i 座位规定 β -半乳糖苷酶分子的氨基酸顺序,这个座位的突变就导致合成一个具有置换了的一个或多个氨基酸的、改变了的或无活性的酶分子。这种类型的基因称为结构基因,其定义为带着为一种专一蛋白质(在本例为 β -半乳糖苷酶)的氨基酸顺序编码的信息的基因。第二个座位,即 i 或抑制性座位,被认为对 β -半乳糖苷酶的结构无影响,而起着一个“抑制”基因的作用,它决定 β -半乳糖苷酶的结构基因是否将被转录。这样一种基因称为调节基因。当 i 基因发生突变变为有缺陷时,它就不再抑制结构基因的转录,于是不管诱导物是否存在, β -半乳糖苷酶都被合成。

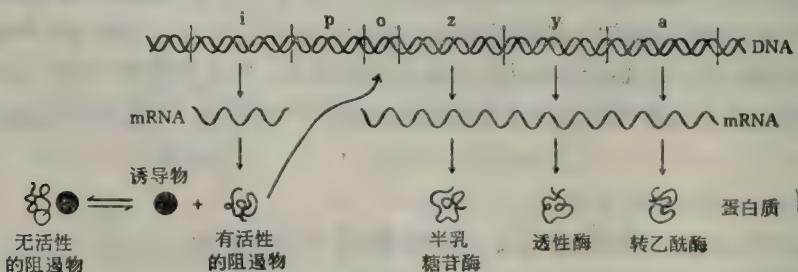


图 35-3 图解表示 lac(乳糖)操纵子及其协调调节。没有诱导物时,由 i 基因编码的阻遏物同操纵基因[0]结合,阻止和 β -半乳糖苷酶、透性酶和转乙酰酶相应的结构基因 z 、 y 和 a 的转录。当诱导物分子存在时,它和阻遏物结合,改变后者的构型而成为不活动型,以致不能和操纵基因结合。于是结构基因释出而被转录,产生了一个多顺反子信使 RNA,再由核糖体将此 mRNA 翻译并产生三种蛋白质。基因组中标记为 P 的一段节是启动区。

关于 i 基因产物的性质,一个重要的线索得自 A. B. Pardee、Jacob 及 Monod 的一些实验。他们发现:将含有完整的 i 和 z 基因的 DNA 通过性接合作用引入到 i 基因有缺陷的突变型细胞(命名为 i^- 细胞)去时,这样引入的完整 i 基因不仅能阻遏 i^+ 供体细胞

的 DNA 节段中的结构基因 z 的转录，而且也阻遏 i^- 受体细胞中结构基因的转录，因而受体细胞就从一个组成型 i^- 突变型转化成一个 i^+ 细胞。这一观察表明： i 基因生成一种能扩散的产物，可到达与它相应的结构基因并抑制其转录，不管结构基因位于细胞中什么场所。

根据这些和另一些实验，Jacob 和 Monod 提出：调节基因给称为阻遏物的一种专一蛋白质的氨基酸顺序编码。还假定阻遏物分子从它形成的场所——核糖体扩散出来，并与细胞 DNA 的一个专一位点呈物理性的结合，这一位点紧靠着或邻近酶的结构基因而此基因控制此酶的合成。当阻遏物以这种方式结合时，就防止为酶的合成编码的结构基因的转录。

DNA 中被认为和阻遏物分子结合的位点叫做操纵基因或 σ 座位。DNA 中存在着这样一种座位，控制 β -半乳糖苷酶的结构基因的转录，但又不同于 i 基因，由于发现了第二类组成突变型（同 i 基因有缺陷的组成突变型不同）而获得证实。遗传学分析指出，这种第二类组成突变型不能应答阻遏物，因为在染色体上正常与阻遏物结合的专一位点即操纵基因座位已发生突变，有了缺陷，其结果是 z 基因被转录，就形成 β -半乳糖苷酶。操纵基因座位的突变型称为操纵基因组成突变型。操纵基因的独立存在，与结构基因和调节基因不同，以后由许多遗传学实验所确立。大概操纵基因就位于 β -半乳糖苷酶结构基因的很近处，近到足以控制结构基因的转录。

Jacob 和 Monod 将这些事实综合成下列假说。没有诱导剂时阻遏物分子（大概是一种蛋白质）从 i 基因转录而由细胞形成。无诱导物时，阻遏物便以活性状态出现，同操纵基因座位结合，从而防止 β -半乳糖苷酶的结构基因的转录（图 35-3）。当诱导物分子又加至这些细胞时，它即在阻遏物蛋白上一个专一的、互补的结合位点与阻遏物蛋白结合而形成一种阻遏物-诱导物复合物。Jacob 等还提出诱导物的结合使阻遏物不能和 σ 座位结合，大概因为引起了阻遏物蛋白质的构型改变。 β -半乳糖苷酶的结构基因即可自由地转录而产生 mRNA，于是酶就合成了。诱导剂和阻遏物分子间的相互作用被假定是可逆的。用以说明下列事实，即当培养基中除去诱导剂或者后者被酶的作用消耗后，阻遏物就恢复成它的抑制型，结合到 σ 座位，从而阻止酶的进一步合成。因此阻遏物分子被认为是一个有两种专一结合位点的蛋白质，其中之一与诱导物结合，另一个与操纵基因座位结合。当诱导物的位点被占时，操纵基因的结合位点就不再起作用了。

操纵子模型

Jacob 和 Monod 发展了他们关于蛋白质合成的调节的假说，提出协调诱导，即一系列的酶可以成组地被单个诱导物所诱导的机制。我们已经看到 β -半乳糖苷能协调地诱导一组三个蛋白质： β -半乳糖苷酶， β -半乳糖透性酶和 β -硫代半乳糖苷转乙酰酶，它们分别由 z 、 y 和 a 等三个基因编码，这些基因按次序组合在大肠杆菌的基因组内。这样三个受同一个 i 基因和同一个操纵基因 σ 调节的结构基因，Jacob 和 Monod 命名为 lac（乳糖）操纵子（图 35-3）。更一般地说，操纵子被定义为一组机能上有联系的结构基因，在染色体遗传图上互相接近，并通过同一个调节座位协调地扭开或关闭。操纵基因座位被看作为控制整组协调地诱导的基因的转录，以形成单个多顺反子信使 RNA。在大肠杆菌、鼠伤寒沙

门氏菌和其他一些细菌中已经检定了许多操纵子(表 35-1)。其中 lac 操纵子在其机构和功能方面是最简单的。研究得最广泛和最复杂的一种操纵子是在鼠伤寒沙门氏菌中控制组氨酸生物合成的操纵子,共有九个结构基因,为十种酶活性编码。(图 35-4)

表 35-1 细菌中的一些操纵子[†]

操 纵 子	酶的数量	功 能
乳糖(Lac)	3	β -半乳糖苷的水解及转运
组氨酸(his)	10	组氨酸的合成
半乳糖(gal)	3	将半乳糖转化为尿苷二磷酸葡萄糖
亮氨酸(leu)	4	将 α -酮异戊酸盐转变为亮氨酸
色氨酸(trp)	4	将磷氨基苯酸转变为色氨酸
阿拉伯糖(ara)	4	阿拉伯糖的转运及利用
嘧啶(pyr)	5	将门冬氨酸盐转变为尿苷一磷酸

[†] 表中所列的操纵子已经在大肠杆菌中经过彻底研究;组氨酸操纵子例外,它已在鼠伤寒沙门氏菌中详细研究过。

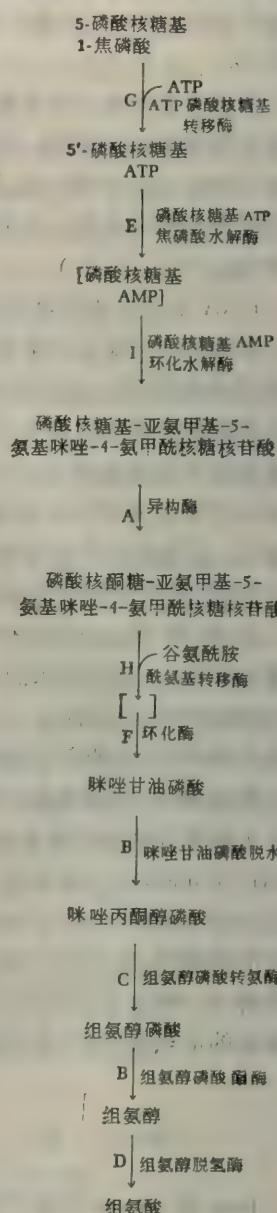


图 35-4 组氨酸(his)操纵子,左侧示操纵子的遗传图;右侧为基因产物所催化的生物合成顺序。组氨酸生物合成的细节见前。注意组氨酸操纵子中结构基因的顺序并不相当于它们的基因产物的作用顺序。

酶 的 阻 遏

Jacob 及 Monod 的假设也解释了酶或酶系受到生物合成最终产物的阻遏(图 35-5)。例如,大肠杆菌培养基中有组氨酸时阻遏从组氨酸前体形成组氨酸时所需全部酶的形成。

然而已经发现大肠杆菌的组成突变型，这种突变型不管培养基中有无组氨酸，均极大量地产生这些酶。所以这些酶是由一组结构基因所规定，后者可被其最终产物组氨酸所阻遏。为了说明这种最终产物阻遏，Jacob 和 Monod 假定在这种情况下阻遏物分子本身并无活性，但当其与促成阻遏的代谢物（称为辅阻遏物）结合时就形成阻遏物-辅阻遏物复合物。这种复合物再与操纵子的结构基因的操纵基因座位结合，从而防止了结构基因的转录。因此，有两类阻遏物分子，一类在酶活性的诱导中起作用，另一类在终末产物阻遏中起作用。两类阻遏物至少都含有两个结合位点，一个对操纵基因座位是专一的，另一个则对无论一个诱导物分子或一个促成阻遏的代谢物是专一的。因此诱导和阻遏的原理本质上相似。

当组氨酸浓度超过某一水平时，虽然组氨酸的生物合成受到阻遏，但组氨酸操纵子的真正阻遏物已经检定为组氨酸 tRNA_{His}。

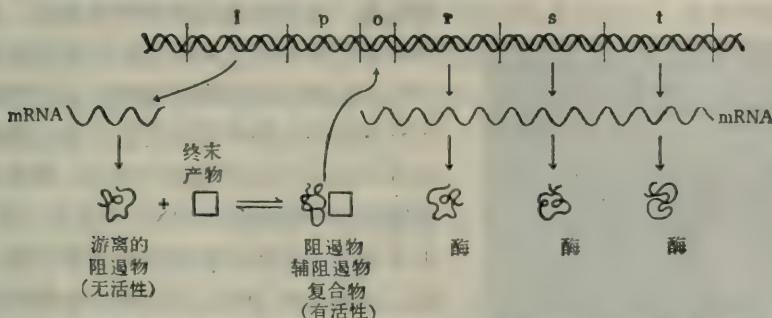


图 35-5 酶阻遏的 Jacob-Monod 模型。当一生物合成的终末产物，如组氨酸，很丰富时，它就发挥辅阻遏物的作用。辅阻遏物-阻遏物复合物和操纵基因结合，并防止结构基因的转录。

阻遏物的分离和化学本质

虽然 Jacob 及 Monod 的假说在解释酶的诱导和阻遏的许多方面取得了出色的成就，并经得起许多严格的遗传学检验，但长时期来还没有直接的化学证据可用来证实假想的阻遏物分子的存在。事实上，似乎不太可能对这种阻遏物进行直接的化学检定。首先，遗传学计算指出单个大肠杆菌细胞含有不多于约十个左右假想的 lac 操纵子阻遏物分子。因为大肠杆菌细胞总共含有几百万蛋白质分子，看来分离纯粹形式的 lac 阻遏物是一项极其艰难的工作。然而，因为 Jacob-Monod 的阻遏概念是许多遗传学理论和实验的基础，所以分离阻遏物分子的工作已经成为重要的目标。

1967 年 W. Gilbert 和 B. Müller-Hill 成功地分离了部分提纯形式的 lac 阻遏物。由于在未适应的大肠杆菌细胞中正常只有极微量的 lac 阻遏物分子，Gilbert 和 Müller-Hill 的工作从寻找含有异常大量 lac 阻遏物的大肠杆菌细胞突变型开始。他们成功地发现了一种突变型，所含 lac 阻遏物的量将近正常大肠杆菌细胞的 10 倍。做成这些细胞的提取液，并检验其中能和一种 β -半乳糖苷酶活性的安慰诱导物即异丙基硫代半乳糖苷（简写为 IPTG）结合的一种专一的蛋白质的存在。分析结合活性的办法是将细胞提取物放入一透析袋中，与含有放射性 IPTG 的外部溶液达到平衡，因 IPTG 为一小分子，可以自由通过透析膜。细胞提取液能结合大量的 IPTG，可由含细胞提取液的袋内 IPTG 的平衡浓度比外界浴溶液中高的事实证明。利用这种技术，即所谓平衡透析法，可以分析细胞提取液的各种不扩散部分结合 IPTG 的活性。最后当与 IPTG 结合的物质纯化了将近 100 倍时，就

证明了它是热不稳的，并显示蛋白质的其他特性。为了证明与 IPTG 结合的蛋白质是专一的，用没有 lac 阻遏物活性的大肠杆菌组成突变型的细胞提取液进行了相似的实验。这种提取液就不含与 IPTG 结合的蛋白质。

然后 Gilbert 和 Müller-Hill 使大肠杆菌细胞在含有放射性硫酸盐的培养基上生长，并分离与 IPTG 结合的阻遏物蛋白质，后者的蛋氨酸及半胱氨酸残基的硫原子上已被 S^{35} 所标记。标记的阻遏物蛋白质再与得自大肠杆菌的一部分 DNA 混合，已知这部分 DNA 含有控制 β -半乳糖苷酶合成的基因座位。将混合物进行密度-梯度离心。DNA 的沉降系数一般比蛋白质高得多，所以首先沉降。它含有大量的 S^{35} 标记的结合阻遏物蛋白质。但当加入诱导物分子 IPTG 时，标记的阻遏物蛋白质就不再与 DNA 结合。这一发现证实了 Jacob-Monod 假说的一个中心特点，即阻遏物同诱导物结合，产生了一种无活性的不能与

染色体上的操纵基因结合的复合物。其它试验也证实了被分离出来的 lac 阻遏物蛋白质的专一性；这些实验采用的 DNA 是从在操纵基因区有缺陷的大肠杆菌突变型分离出来的。如同 Jacob-Monod 假说所推断的那样，观察到 lac 阻遏物与这种突变型的 DNA 不结合。还证明了阻遏物分子不能与热变性的大肠杆菌 DNA 结合，不管这种 DNA 是否得自含有一完整的或是有缺陷的 β -半乳糖苷酶结构基因的细胞。Gilbert 和 Müller-Hill 更进一步证明阻遏物分子不含 RNA，因其结合活性不受核糖核酸酶处理的影响。



图 35-6 大肠杆菌细胞一段 DNA 的电子显微镜照相，示一 lac 阻遏物分子(箭头所指)同 lac 操纵基因结合。

β -半乳糖苷酶催化的转糖基作用而形成。图 35-6 显示同大肠杆菌 DNA 的操纵基因区相结合的 lac 阻遏物蛋白质。

后来又分离了另一些阻遏物包括 gal (半乳糖) 操纵子和 trp (色氨酸) 操纵子的阻遏物。特别重要的是 M. Ptashne 的工作，他分离了嗜菌体 λ 的 DNA 中某些结构基因的阻遏物。嗜菌体 λ 的 DNA 掺入到大肠杆菌的基因组内，在那儿它能够一直潜伏下来，主要是经过许多代不被转录，因为它一直被 λ DNA 的一个专一基因产物所阻遏，这一产物是一

种阻遏物蛋白质，它防止大部分的病毒 DNA 被转录，从而防止了病毒基因的其余部分的复制。操纵子化学方面另一个真正的进展是 J. Beckwith 和他的同事们分离了一段相当于 lac 操纵子的大肠杆菌 DNA。

所有这些进步都对 Jacob-Monod 的基因调节理论提供了令人信服的支持，并为更加深入地研究阻遏作用与消阻遏作用的其他方面开辟了途径。

启 动 子

遗传学和生物化学的研究已经确定了操纵子中另一个专一的部点，即启动子位点。这就是由 DNA 指导的 RNA 聚合酶所识别为起始信号的位点，它指示转录从这里开始以形成 mRNA。从遗传学实验已经确定这一位点在 i 或调节基因和 lac 操纵子的操纵基因座位之间(图 35-3)。启动子只是比较短的 DNA 节段，不到 100 个核苷酸。我们就将看到，启动子也是在某些操纵子转录时所需的另一种专一类型的蛋白质，即 cAMP 受体蛋白质的结合位点。

cAMP 和操纵子的转录

1965 年 R. S. Makman 和 E. W. Sutherland 在大肠杆菌细胞内发现了 cAMP。这一发现多少使人感到惊奇，因为在当时知道这一化合物主要是它在动物激素肾上腺素和胰高血糖素的作用中作为“第二信使”的功能，而且知道这些激素不影响细菌。但更令人惊奇的是，他们发现将葡萄糖加到培养基中明显地阻遏了细菌中 cAMP 的浓度。开始时对葡萄糖的这种作用的意义不理解，但随即被 I. Pastan 和 R. Perlman，还有 Monod 的实验所阐明了。他们证明将 cAMP 加到大肠杆菌的悬浮液中能克服葡萄糖引起的 β -半乳糖苷酶合成的正常降解产物阻遏。这一效应是对 cAMP 专一的，其他核苷酸或磷酸盐化合物没有这一效应，而且 cAMP 并不影响不受葡萄糖阻遏的一些酶的合成。Pastan 和 Perlman 调查了若干种细菌的许多受葡萄糖阻遏的酶，将 cAMP 加到细胞悬浮液中全都克服了降解产物阻遏。他们也发现 cAMP 使 mRNA 量增加，相当于被葡萄糖阻遏的大肠杆菌细胞的 lac 操纵子经诱导性 β -半乳糖苷处理后的情况。他们推断 cAMP 启动了葡萄糖阻遏的操纵子的转录，他们认为这一效应是 cAMP 和操纵子基因座位的直连或间接的相互作用。

Pastan 和 Perlman 以及他们的同事们进一步发现 cAMP 对转录的作用需经过一个能结合 cAMP 的专一蛋白的媒介。这一蛋白已经分离出来，称为 cAMP 受体蛋白 (CRP) 或降解代谢产物基因激活剂蛋白 (CAP)，其分子量为 45000。Pastan 和他的同事发现，在一无细胞系统中可以对分离出的 lac 操纵子 DNA 转录的调节进行观察。当将 lac DNA、RNA 聚合酶，以及四种三磷酸核苷酸 (NTP) 前体的混合物保温时，操纵子结构基因的转录速率非常缓慢，然后将 CAP 和 cAMP 一起加入，由 RNA 聚合酶转录 lac DNA 的速率就大为提高，但当省去 cAMP 或 CAP 时，转录即减弱。为了证明这一系统是对 lac 阻遏物蛋白的调节发生的应答，将阻遏物蛋白加到 lac DNA、RNA 聚合酶、NTPs、CAP 和 cAMP 的混合物中即阻遏了转录作用，但将诱导物 IPTG 和 lac 阻遏物一起加入时，就解除了阻遏，

进行结构基因的转录。

这些实验以及其他一些实验已经证明：cAMP 和 CAP 在启动 lac 操纵子的转录中是帮助 RNA 聚合酶识别启动子中或启动子附近的始动信号的成分。大概 cAMP 必须先和 CAP 结合，然后结合的 CAP 和启动子（或者可能是 RNA 聚合酶）作用，使起始过程能够进行。因此 cAMP 不但是动物组织中激素作用的第二信使，而且显然也作为信使参与细菌内葡萄糖阻遏的操纵子转录的调节。这样一种基因表达的调节类型，即细胞成分增强转录而不是抑制转录，叫做正转录控制。只要葡萄糖可以当作燃料来利用，那么 cAMP 的水平就低，于是就防止合成一些能利用其他能源（如乳糖、半乳糖、阿拉伯糖或麦芽糖）的酶；当细胞中葡萄糖的水平下降，并有另一种碳源可供利用时，cAMP 就增加，并和 CAP 结合。cAMP-CAP 复合物然后就和启动子结合，激发了它的操纵子的转录。培养基中葡萄糖的存在又如何降低了细菌内的 cAMP 水平，仍未明了。

在 DNA 的 lac 控制区中专一座位的鉴定

带有 lac 阻遏物结合位点的一节段细菌 DNA 已经被 Gilbert 和他的同事们分离出来了。他们先将大肠杆菌 DNA 搞成碎片，每片约 1000 个碱基对长。含有完整 lac 区域的碎片再和其余部分的 DNA 分开，即让碎片和 lac 阻遏物蛋白结合，以后加入安慰诱导物就能回收分离出的 DNA。含 lac 的启动子-操纵基因区的分离出的 DNA，再让它和 lac 阻遏物重新结合，用胰脱氧核糖核酸酶消化复合物，除了留下和阻遏物分子结合的约 27 个碱基对长的那段 DNA 外，将其余的 DNA 全部消化掉。然后测定这节段的碱基顺序（图 35-7）。证明结合位点的碱基顺序是双重对称的。

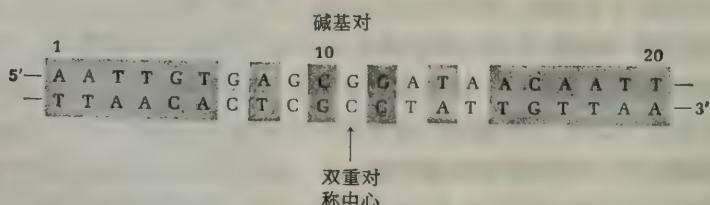


图 35-7 操纵基因座位中 lac 阻遏物的结合位点的中心。这一位点显示以第 11 对碱基为中心的双重对称。在 DNA 的主沟中，lac 阻遏物分子的四聚物大概和这对称区内的两个位点结合。

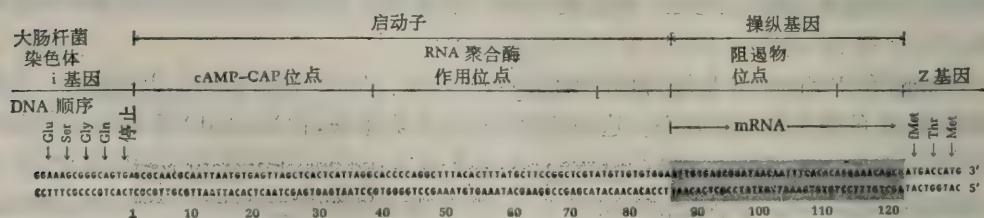


图 35-8 乳糖操纵子的启动子-操纵基因区的分子结构。显示两条 DNA 链的碱基顺序，从 i 或调节基因末端延伸到 Z 基因的开始 9 个碱基。cAMP-CAP 复合物的结合位点大约有 35 个核苷酸长，RNA 聚合酶结合位点大约有 40 个核苷酸长。

R. C. Dickson 和他的同事们对确定 lac 操纵子调节区的研究又有所发展，他们成功地解决了同 lac 操纵子 DNA 的启动子和操纵基因区域互补的 mRNA 的全部核苷酸顺序。由

此他们推导出 lac DNA 调节区中 122 个碱基对的顺序(图 35-8)。通过遗传学和生化学的研究使他们可以画出 cAMP 结合蛋白(CAP)的结合位点, RNA 聚合酶的结合位点, 操纵基因以及 β -半乳糖苷酶基因的起端, 并且还描述了 lac 操纵子转录的一种模型。(图 35-9)

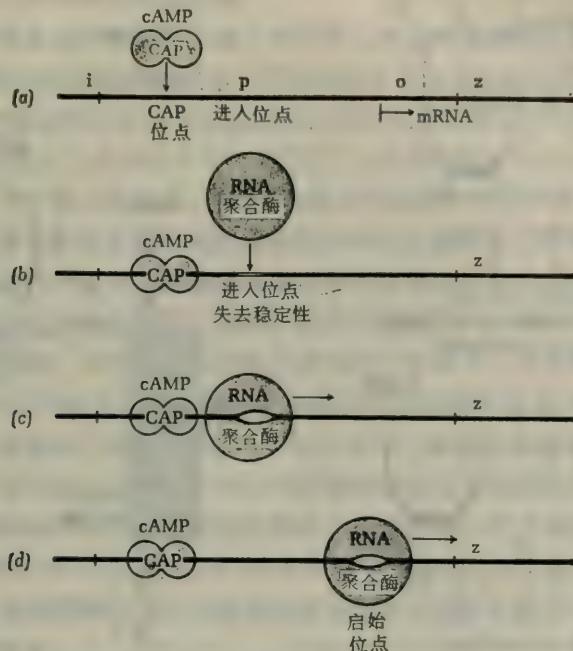


图 35-9 lac 操纵子转录的起始模型, 模型按比例绘制。在 cAMP-CAP 复合物和它的专一位点结合后(a), 就使 DNA 失去稳定性(b), RNA 聚合酶就结合至它的位点(c), 并沿着解链泡“漂移”到起始位点(d)。

核糖体 RNA 合成的约束控制和松弛控制

从 O. Maaloe 和他同事们的实验起, 人们知道以下事实已经有一段时间了, 即核糖体制造多肽链有一极大速率, 在 37℃ 时每秒钟每个核糖体大约形成 15—20 个氨基酸残基。也已经知道, 正在生长中的细菌蛋白质合成的速率受每个细胞中核糖体数量的限制, 更为特殊的是每个细胞的核糖体 RNA 的量才是决定性因素。当大肠杆菌细胞无氨基酸来源时就不能制造蛋白质, 核糖体 RNA 的合成就停止, 每个细胞的核糖体数可降至最大值的一半。通过缺乏氨基酸来控制 RNA 的合成称为约束控制。

约束控制的能力容易发生突变。在这些突变型中, 即使缺乏氨基酸核糖体 RNA 的合成也还继续进行; 于是将这种类型的 RNA 合成的控制称为松弛控制。在显示 RNA 合成的约束控制的正常细胞内发现了一种迄今还不知道的核苷酸, 表现为细胞提取液的纸电泳图上出现一个斑点, 然而这个被称为 I 号奇异斑点的斑点在分析松弛突变型的提取液时却并不出现。斑点中的核苷酸经分离和检定为鸟苷 5'-二磷酸 2'(或 3')-二磷酸, 以符号表之为 ppGpp (图 35-10)。这一核苷酸和另一个核苷酸 [在 II 号奇异斑点中发现并检定为鸟苷 5'-三磷酸 2'(或 3')-二磷酸 (pppGpp)] 都是由核糖体在 ATP、GDP、mRNA 和

没有负荷的 tRNA 存在时酶促形成的。M. Cashel 和 J. Gallant 以及他们的同事们所作的这些和另一些观察,确定了 ppGpp 和 pppGpp 起着核苷酸信使的作用,它们可以在不能

得到氨基酸来合成蛋白质时以某种方式停止核糖体 RNA 的合成。在 rRNA 合成的约束控制中显示了细胞分子经济学的另一个例子: 只有快要使用核糖体时才会合成它。

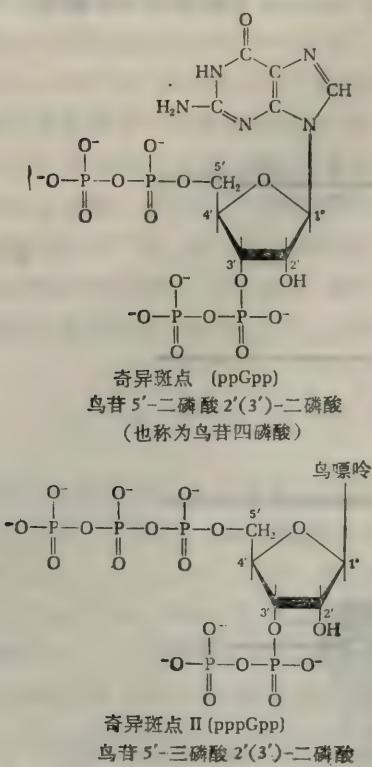


图 35-10 严格控制核糖体 RNA 合成的奇异斑点核苷酸。

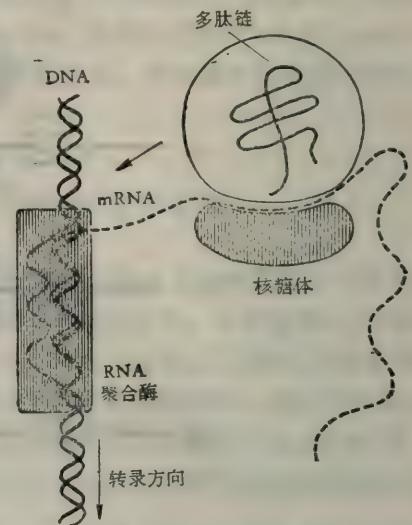


图 35-11 转录和翻译的密切偶联。当 RNA 聚合酶从 DNA 上转录 mRNA 时, 核糖体也在翻译 mRNA。

细菌中翻译的控制

我们已经看到酶合成的诱导和阻遏是在 DNA 转录为 mRNA 的水平上进行调节, 并不是在 mRNA 翻译为多肽链的水平上进行调节的。的确, 对基因表达进行调节的多数机制是在转录水平运转的。这一点和细胞分子逻辑中的经济学原则相符: 为了保存能量和代谢物, 几乎全部的代谢调节机制是在一个过程的开始或临近其开始时起作用, 而不是在过程的结束时起作用。在多数情况下, 一旦形成了信使 RNA, 翻译似乎是自动地接着进行。事实上, 翻译似乎和转录紧密地偶联在一起的, 以致当 mRNA 还正在从 DNA 上转录时, 核糖体就开始翻译 mRNA 了, 而且只要继续进行转录, 翻译也会继续进行(图 35-11)。但是据认为在某些特殊情况下也有在翻译水平发生调节作用的, 既可以调节翻译的起始, 也可以调节核糖体从多顺反子信使 RNA 上的脱落。例如曾用翻译的调节来解释下列事实: 在某些操纵子内, 不同基因的产物, 也就是由操纵子编码的不同种酶, 不一定都以等克分子量形成。一个操纵子的一种基因产物可以做成几百个复本, 而由同一多顺反子 mRNA 编码的另一基因产物可以只制成几个复本。在这一情况中核糖体可以在操纵子的全部结构基因完成翻译以前就抛掉 mRNA。这些观察似乎是翻译控制的例子, 就此已经提出了许

多假说。但是转录控制和翻译控制相比较，前者似乎是调节基因表达的更为直接的和更为经济的方式，因为转录的调节使细胞节省了制造没有用的 mRNA 的工作。

真核细胞中的基因表达

前面讨论的内容虽然说明目前我们已相当深入地了解了原核生物中涉及基因表达的调节的主要分子机制，然而，我们现在关于真核机体中基因表达的知识仍然十分贫乏，这有很多明显的原因。脊椎动物真核细胞的基因组比原核生物的要大得多，相差 1—2 个数量级，基因组还分散在若干个或许多个染色体上，而且在体细胞中基因组是二倍体。另外，染色体有非常复杂的分子成分和结构，它物理地被核周被膜和细胞质中的核糖体隔离。虽然真核生物中转录的基本酶促机制可能同原核生物中的非常相似，但真核生物染色体具有复杂的物理构型和超分子机构，要选择和暴露那些应该被转录的 DNA 节段，无疑地需要原核生物中尚未出现的调节因子的参与。此外，真核机体由于具备十分庞大的基因组，能够分化出许多种细胞，而原核细胞则极少或没有分化能力。在脊椎动物高度分化了的真核细胞中，大部分基因组是永久地而且可能是不可逆地被阻遏了；举个例子来看，肌肉细胞并不能转化为肾细胞，虽然一种细胞可能含有另一种细胞所特有的结构基因。真核细胞的全部基因组中只有比较小的一部分可以被诱导或可逆地被阻遏。反之在原核生物中，可逆阻遏的容量相当大，而不可逆阻遏则极少或者没有。在真核生物的 DNA 中出现大量的冗余顺序，表现为比较短的随体 DNA 顺序和大量的比较长的重复顺序，更使复杂程度增加。由于所有这些理由，可以预期真核生物中对基因表达进行调节的分子基础比原核生物中要复杂得多。

真核生物遗传学中的另一原理必须加以强调。目前似乎已经肯定，高度分化的真核有机体中每一个细胞都含有那个有机体的整个基因组。因而一脊椎动物的肌肉细胞不仅含有其特有收缩系统及其全部特殊酶系的基因，还含有规定在那个有机体内所有其他细胞表型所需的基因。真核有机体细胞的遗传全能性最初由植物界的一个例子所证明：在适当条件下，整株胡萝卜可以从单个体细胞长成。最近已经证明，某些体细胞的细胞核含有规定一个成熟动物有机体发育所需的全部遗传信息。

当我们考虑真核生物中基因表达的各个方面时，我们必须认识到基因表达的转录控制（原核生物所采纳的主要方式）并不是引起有差别的基因表达的唯一方式。基因表达还可通过下列过程调节，如核内信息 RNA 的处理，细胞质内核糖体水平的翻译控制，或者翻译后多肽产物的修饰。不过看来转录控制可能是主要的调节过程，由于这种类型的控制使物质和能量的利用最为经济。

下面几节中我们将考虑由底物和激素引起的酶的诱导以及细胞周期内基因表达的调节。然后我们将考虑细胞分化时的基因表达。

真核生物中酶的诱导和阻遏

我们现在来考虑真核生物中是否也进行酶的诱导和阻遏，如果进行的话，为原核生物发展起来的 Jacob-Monod 操纵子模型是否也适用。

事实上，真核细胞确实也具有由酶的底物诱导某些酶的能力。很明显，这一现象不仅见于低等真核生物，例如酵母菌和链孢霉中，而且也见于脊椎动物中。真核细胞对诱导剂的反应较之原核生物有更为迟缓和较少惹人注目的趋势。例如在酵母或链孢霉细胞中，乳糖诱导 β -半乳糖苷酶的活性要经过几分钟，酶活性的增强可能只有十倍，不像在大肠杆菌细胞中见到的那样成千倍地增强。另一重要区别是真核生物中似乎没有发生一组有关酶系的协调诱导或协调阻遏的全或无情况。的确，并没有证据表明催化某一代谢途径的一系列酶被单个染色体中的相邻基因所编码。反而像这样一系列有关酶所需的结构基因是分散在真核细胞的若干个染色体上，而且它们并不像操纵子假设中所指的那样以简单的协调方式进行调节。

在哺乳类的肝脏中底物引起的酶的诱导特别明显。例如，肝内代谢某些氨基酸所需的酶类的浓度差别很大，反映出食物中氨基酸的含量。还有肝内糖原异生作用途径的旁路部分所涉及的酶类也随食物的性质而波动，但肝脏对高水平的食物氨基酸的充分反应可能需要数小时甚至几天之久。从食物中撤除诱导物后酶的浓度恢复到正常或阻遏水平也可能需要几小时或几天。一种已经研究很多的肝内诱导酶是色氨酸2,3-加氧酶，在色氨酸降解的第一阶段中起作用。不仅当食物中有大量色氨酸时这种酶的活性大为增强，而且给动物输入某些激素时，这种酶的活性也明显增加。肝内色氨酸加氧酶的诱导确实是由于合成了新的酶蛋白，这点已经通过给予放线菌素D得以证明，后者可能通过抑制DNA的转录而抑制诱导酶的形成。体内或体外的肝细胞中另一个容易诱导的酶是酪氨酸转氨酶。

脊椎动物中酶的诱导和阻遏，绝大部分只在肝和小肠的上皮细胞内发生，肌肉、脑或其他组织中不发生。这一事实和脊椎动物的解剖学和生理学的机构相符。小肠和肝是最早接触吃进体内的混合营养物的一些组织，这些营养物质的成分每时每日变化很大。肝脏作为整个有机体分配营养物的主要中心，就需要诱导和阻遏机制以调节动物摄入营养的波动。大多数组织由血液和组织间液提供恒定的化学环境和营养物的恒定供应，因此几乎不需要迅速反应的诱导-阻遏系统。

激素对基因表达的调节

除了由营养底物诱导酶的活性之外，高等机体的真核细胞在应答专一性激素的作用时具有高度发展的诱导酶的能力和合成专一蛋白的正性调节的能力。这方面特别重要的是性激素，包括雄激素、雌激素和黄体酮，糖皮质激素（一组调节代谢的肾上腺皮质类固醇）和甲状腺素。类固醇激素和存在于对激素敏感的细胞的细胞质中的专一性受体蛋白结合，然后激素-受体复合物掺入到染色质中。已经证明雌激素作用于小鸡的输卵管时，激素-受体复合物和染色质的结合引起某些基因的转录率明显增加，产生像卵白蛋白和溶菌酶这样一些特殊的卵蛋白，而且也已经证明这一过程是通过中间形成为这些蛋白编码的一些mRNA而发生的。激素-受体复合物本身起着诱导剂的作用，可能和适当的染色体中的一个专一座位结合，其位点相当于原核生物中的操纵子。

糖皮质激素似乎对许多动物细胞（即使不是所有的动物细胞）都有一种一般效应，Tomkin和他的同事们已对此进行了相当详细的研究。这类肾上腺类固醇，还有一种合成

的类似物地塞米松(图35-12),不仅引起应激的适应,也促使哺乳类动物不同器官的发育。糖皮质激素在诱导和肝内糖原异生作用有关的酶类时也非常有效,这些酶有磷酸烯醇丙酮酸羧激酶,酪氨酸转氨酶以及另一些将专一氨基酸的碳骨架转变成葡萄糖时所需的酶。糖皮质激素似乎也是各种各样哺乳动物细胞在合成培养基中体外生长所必需的因子。已经证明几乎每一种哺乳类组织都含有专一的糖皮质激素受体,现在看来,糖皮质激素可能是发育激素,能引起某些型式的基因表达。

甲状腺素看来也有同样的能力引起专一酶的合成。例如给蝌蚪以甲状腺素不仅引起蝌蚪变态为成年青蛙,而且当这种有机体从排泄氨基氮的排氨型习性转变成排尿素习性时也促使尿素循环中所需的一些肝脏酶类引人注目地出现。

细胞周期中基因的表达

真核细胞中基因的表达在另一组情况即细胞周期中也有非常引人注目的改变。细胞周期的定义是从一次有丝分裂的开始到下一次有丝分裂开始的一段时期。一切体细胞在这时期中都经历一次特殊的形态和生化改变的周期。图35-13表示真核生物细胞周期中

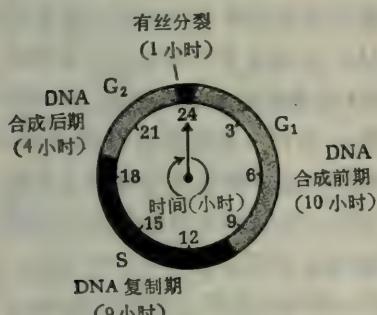


图35-13 组织培养中一个细胞的细胞周期。24小时分裂一次。

的连续阶段,细胞周期的整个持续的时间变异很大,某些细胞只几分钟,另一些细胞有几星期或几个月。细胞周期有四个明显的时相(图35-13),G₁期是在一次细胞分裂后立即开始的时相;在G₁时细胞为二倍体。下一周期为S相,此时合成DNA,染色质进行复制。在S相末期,细胞含两倍量的染色质并进入G₂相,细胞从G₂相进入有丝分裂。G₁和G₂代表细胞周期时相之间时期的空隙,这时不合成DNA。整个细胞周期的时间长短变化主要是G₁持续时间改变的结果,后者似乎受到专

一的控制。图35-13显示在一典型的细胞培养中,其倍增时间为24小时的细胞周期不同时相的持续时间。

DNA、RNA和蛋白质的合成在细胞周期中的调节是非常特殊的。染色质的DNA和组蛋白组分只在S相中合成,G₁或G₂相中不合成。反之,细胞质蛋白和细胞器在间期的全部时相即G₁,S,和G₂中持续合成。另外RNA在间期中也持续合成。不过在有丝分裂时,所有DNA和RNA的合成全部停止,而且蛋白质合成也大为减少。

根据这些性质,显然染色体的DNA只在细胞周期的专一部分用来复制。在一些周期长的细胞中,S相在间期中只占较短的时期。其余时间内,DNA模板必然受到限制,不能被DNA聚合酶用来复制。另一方面,RNA和大部分的细胞蛋白质在整个间期中持续合成,这说明整个基因组虽然在复制方面受限制,但它的许多节段一定被用作转录。显然,

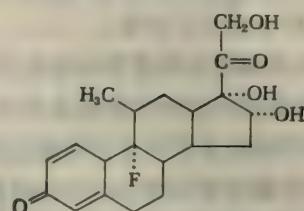


图35-12 地塞米松(9α , 16α -甲基氟强的松龙),一种合成的糖皮质激素。

在 G_1 和 G_2 时相中全部 DNA 只在复制方面受到限制，而使挑选出来的一些专一部分仍然用作转录。由蛋白质或其他因子简单地隐蔽或覆盖 DNA 还不足以说明有区别地利用 DNA 进行复制而不转录。

目前有两种比较重要的实验方法用来研究控制细胞周期不同时相（尤其 G_1 相），从而控制有丝分裂的速率的生物化学因素。一种方法是将正常细胞（如成纤维细胞、卵巢细胞或肾脏细胞）放到能支持细胞生长的培养基中在体外培养。加入致癌（引起癌的）病毒，如含 DNA 的猿猴病毒 40 (SV40) 后，这些细胞就能转化为恶性癌细胞。在培养基中当多数正常细胞达到某一浓度或密度时，他们就突然停止分裂。然而由一种致癌病毒诱导起恶性的转化后，细胞分裂得更快了，而且不能识别正常的“停止”讯号，它们一股劲儿地继续增生，达到高得多的细胞密度。在某些情况下，“停止”讯号只是同相邻的同种细胞的物理接触，这提示在接受和传递停止讯号时涉及细胞表面的受体。

经常用来研究细胞周期调节的另一实验情况是将有丝分裂因子（刺激有丝分裂的物质）加到在培养基中生长的细胞。最广泛应用的有丝分裂因子是一组称做外源凝集素的植物蛋白。伴刀豆球蛋白 A（刀豆的一种蛋白）和小麦植物血球凝集素就是二个例子。植物血凝素之所以这样命名是因为它能凝集红细胞，这是外源凝集素比较普遍的一个性质。外源凝集素刺激许多种动物组织的细胞进行分裂。外源凝集素分子和细胞表面的专一受体结合，这和通常结合某些激素（如胰岛素）时起作用的细胞表面受体位点相似或者可能相等；事实上外源凝集素能模拟胰岛素对某些细胞的作用。一旦结合了外源凝集素，细胞内就发出一个分子讯号，这一讯号深深地影响分裂的速率和分化的趋势。

大量证据提示 cAMP 和 cGMP 可能和细胞周期中基因表达的调节有关系，虽然它们起作用的专一方式还不清楚。在迅速分裂的细胞中 cAMP 的浓度是比较低的，而增殖停止的细胞中 cAMP 浓度增高。例如患银屑病（一种皮肤病）时表皮细胞分裂加速了许多倍，cAMP 和腺苷酸环化酶水平比正常表皮细胞内的低得多。服用一种能够穿过细胞膜的 cAMP 衍生物，二丁基 cAMP，就明显地抑制皮肤细胞分裂。当正常细胞被致癌病毒转化为迅速生长的癌细胞时或因加入外源凝集素而受刺激分裂时，常常发生腺苷酸环化酶活性的降低。二丁基 cAMP 又确实能抑制某些肿瘤细胞的生长。根据这些和另一些观察，已经提出 cAMP 是作为细胞周期某些时相的一种抑制物的，从而降低有丝分裂的速率。有丝分裂的抑制常常伴有细胞更加广泛的分化。

另一方面，cGMP 的水平和鸟苷酸环化酶的活性，就细胞分裂速率来说，似以相反方向发生变化。受刺激分裂的细胞中 cGMP 的浓度在应用刺激后立即急剧上升，多达 50 倍；同时 cAMP 的浓度或者没有改变或者有真正的下降。根据这些观察，有人认为 cGMP 是细胞内的信使，能诱导细胞分裂并限制分化，而 cAMP 则抑制分裂和促使分化，这就是阴阳假说。

应该记得对于取消原核细胞中的降解产物阻遏来说，cAMP 起了重要的信使作用，由于它能和 CAP 蛋白质结合的能力，再转而结合到操纵基因区中的一个专一座位上去，于是就启动了转录和降解代谢途径酶类的合成。所以 cAMP 和 cGMP 控制真核生物的细胞周期可能是通过和专一的受体蛋白相结合，从而调整染色质中某些基因的转录。或者就像调节许多酶一样，这些核苷酸也可以激活蛋白激酶依次引起某些控制复制或转录速率的蛋白质的磷酸化。

细胞分化中基因表达的调节：组蛋白和非组蛋白类的蛋白质

上面曾经指出，在比较高等的动物和植物中所有细胞都含有有机体的完整基因组，虽然在任何一定的细胞类型中，总基因组中实际上只有一小部分表现出来，其余的结构基因全都或多或少地受到永久性阻遏。真核细胞中担负这种比较持久型地阻遏的分子机制必然同细胞受专一底物或激素作用时所发生的容易可逆的诱导和阻遏过程所使用的机制有点不同。这些想法导致对染色质组分的广泛研究，因为推想染色质的组分也许能作为基因作用的永久性阻遏物。染色质只含有少数几类组分（表 35-2），其中组蛋白类特别丰富。组蛋白的一般性质在其它章节论述。这儿只要记得组蛋白是小的碱性蛋白，分子量 10000~20000，赖氨酸或精氨酸含量丰富就够了。某些组蛋白的氨基酸顺序已经确定。

表 35-2 小牛胸腺染色质的近似组成 (以DNA = 100 为准)

DNA	100
组蛋白类	114
非组蛋白(酸性)蛋白质类	33
RNA	7

关于真核生物中基因调节的第一个现代假说是在 1943 年由 E. Stedman 和 E. Stedman 提出来的，他们认为在活跃生长的组织和不生长的组织中组蛋白量的变化很特殊。在分子遗传学的近代发展之前很久，他们就主张组蛋白在分化和发育时起着基因阻遏物的作用。二十世纪六十年代早期 J. Bonner 和他的同事们，以及 V. Allfrey 又重新提出这一想法，他们证明组蛋白制剂能够抑制 DNA 在 RNA 聚合酶合成 RNA 时当作模板的能力。

虽然这一想法直到现在仍然很有吸引力，因为组蛋白是染色质的主要组分，然而有一些重要的结果不容易用组蛋白假说解释。在哺乳类较高等的真核细胞中，有大量的各种各样的结构基因，估计为四万到十万多。在任何给定的细胞类型中大多数结构基因受阻遏。基因数量之大提示染色质中阻遏物分子必然也有许多，才足以保证任一细胞内大多数基因不表达。但如本书另一处中所说明的，真核细胞中只有五类主要的组蛋白，而且它们的克分子浓度相近，在某一已知动物的器官间、不同物种间、或不同的代谢或生理状态下，并无多大的变动。事实上组蛋白是真核有机体中最古老的蛋白质，因为在物种间有许多的氨基酸顺序同系物，不同的残基比较少。例如在组蛋白类中有一种只有二个氨基酸残基与从豌豆苗和小牛胸腺所得的制剂不同。这些事实提示组蛋白在一切有机体中都起着相同的作用。虽然在染色质中有足够数量的组蛋白存在以发挥阻遏物的作用，因为每种类型的组蛋白，一个分子即足以对付 DNA 的每 100 个碱基对，如果真核细胞的每一基因或一组基因被一专一蛋白质来阻遏的话，那么把组蛋白作为阻遏物来说，它们的变化类型看来还不够多。

然而组蛋白类确实有一种特性，强烈地暗示它在细胞周期中起着重要作用。组蛋白类在 S 时相中合成后经历了许多由酶修饰的特殊反应，在某些组蛋白中 N-末端氨基和某些赖氨酸残基的 ε-氨基在酶的作用下发生乙酰化。此外，一些赖氨酸残基的 ε-氨基发生甲基化，产生一甲基、二甲基或三甲基衍生物。某些组氨酸和精氨酸残基也发生甲基化。其

中特别有兴趣的是蛋白激酶被 cAMP 激活后使组蛋白的某些丝氨酸残基磷酸化这一事实。这一磷酸化过程在 G₁ 时相的末期开始。大多数这些被修饰的基因经历了恒定的代谢转换。修饰反应的机能看来与组蛋白分子装配进染色质结构有关。最近的研究指出组蛋白类的一些专一组合和 DNA 装配形成染色质时就形成一对、四聚体和寡聚体。R. D. Kornberg 推测在染色质中有 8 个组蛋白分子和大约 200 个 DNA 碱基对的重复单位，因此看起来组蛋白在染色质结构机构中极为重要，但组蛋白是否发挥专一性阻遏物的作用仍属疑问。

染色质也含酸性非组蛋白类蛋白质，后者已经用电泳法分离成许多带。在任何给定的物种中，各种非组蛋白类蛋白质的数目比组蛋白类型的数目大得多，但其数量也确实不足以使组蛋白起着专一性基因阻遏物的作用。因此我们留下了一个令人迷惑不解的难题，即在真核细胞的细胞核内阻遏物分子到底是什么？

核不均一 RNA

在真核细胞的细胞核内三个类型核糖体 RNA 被制成一条很长的前体单股，以后再分解，经进一步处理产生最后的产物，这一过程称为 RNA 的成熟过程。有一段时间曾经认为信息 RNA 也是从核内较大的前体形成的，即从一个称为核不均一 RNA (HnRNA) 的 RNA 库形成。HnRNA 包括许多比信息 RNA 长得多的 RNA 的复杂混合物。HnRNA 的周转也非常快，从同位素示踪实验推导，90% 的 HnRNA 部分其半衰期只有几分钟。已经估计出大部分的 HnRNA 绝不运到细胞质而是在核内降解。虽然某些研究者坚持认为从很长的 HnRNA 链的 3' 末端产生的碎片变为信使 RNA 分子，但最近研究似乎排除了这种可能性，实际上全部 HnRNA 的大部分与核 DNA 杂交而不与 mRNA 杂交。

因此大部分 HnRNA (即使不是全部 HnRNA 的话) 从不作为 mRNA 分子的一部分而离开细胞核，但是可能含有有意义的碱基顺序。这部分 HnRNA 的专一功能是一个很大的迷团，尤其因为它的量大，周转又快。有一种想法是 HnRNA 可能涉及到基因表达的调节。

真核生物中基因调节的 Britten-Davidson 模型

对于真核生物中基因表达的调节已经提出了若干个模型；我们将概括地介绍其中的一种，即由 R. J. Britten 和 E. H. Davidson 提出的模型。在某些方面，他们的模型借鉴于 Jacob-Monod 的原核生物模型，但在另一些方面则又明显地不同。Britten-Davidson 模型考虑到真核细胞基因组并不含有像原核细胞 DNA 中那样的由相邻基因所组成的单个操纵子。它以个体为基础而不是以群体为基础来调节不同染色体中的有关基因。它也说明了染色质含蛋白质太少，起不了阻遏物的作用，而且它还说明了大部分 HnRNA 的大小、周转和品种之多。

Britten 和 Davidson 提出真核生物基因组含有大量的传感器位点 (图 35-14)。后者能识别各种分子讯号因子，诸如专一酶的底物，激素-受体复合物或调节性核苷酸等。每个传感器位点靠近一个整合子基因。当传感器和它的专一底物或一种专一激素-受体复合物

结合而被激活时，整合子基因即被转录而产生激活子 RNA，后者再由一个或一个以上的受体位点识别，这些受体位点位于基因组的另一场所，在同一条染色体或其它染色体上。当激活子 RNA 结合到受体位点时，一个邻近的结构基因即被转录而产生一信使 RNA，它

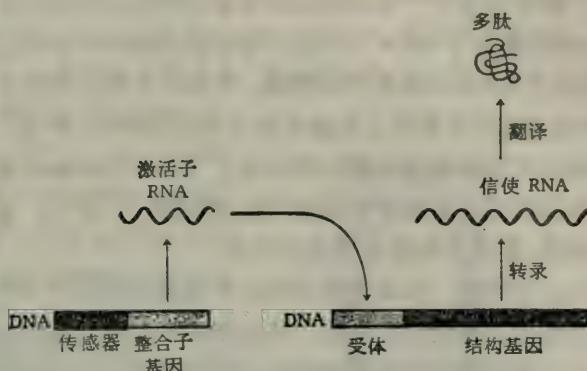


图 35-14 真核生物中调节基因表达的 Britten-Davidson 模型的基本成份。所有的结构基因都处于阻遏状态，除非受到专一的激活。刺激传感器 DNA，引起邻近的整合子基因的转录，产生激活子 RNA，后者和同一条染色体或另一条染色体上的受体位点专一地结合，从而引起邻近结构基因的转录。

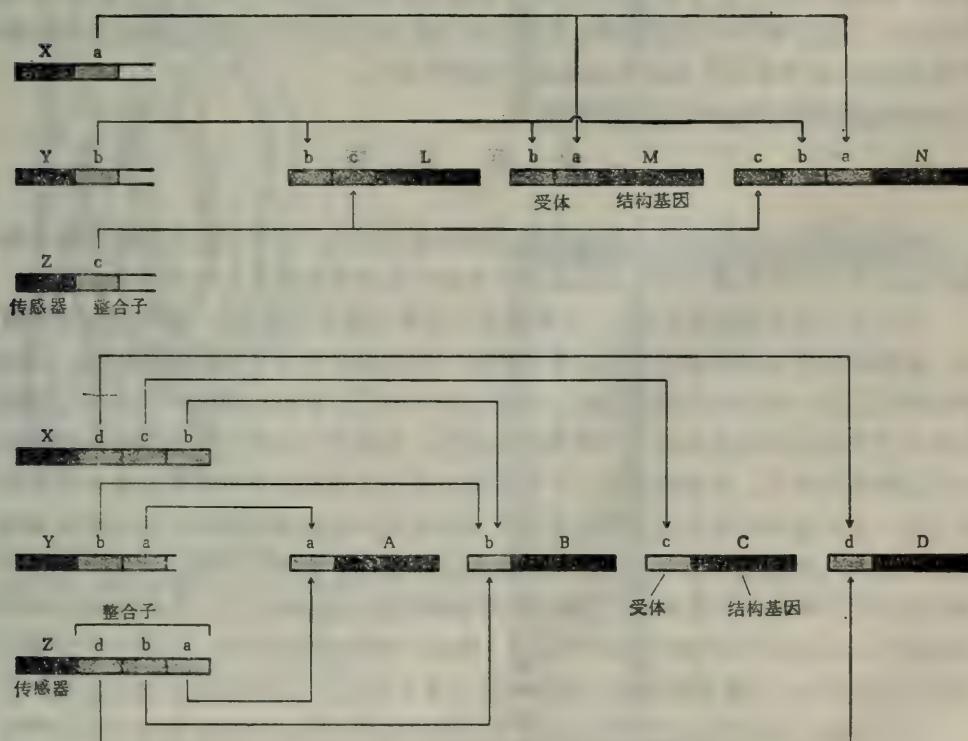


图 35-15 Britten-Davidson 模型的细节。在一调节网络中（图上方）多重受体位点经若干不同的激活子 RNA 作用，而使结构基因表达，在另一调节网络（图下方）中，多重整合子使每个传感器控制多重结构基因。通过多重传感器、整合子和受体的作用，在应答许多不同组传感器刺激时能够调节许多不同组的结构基因。

然后由细胞质中的核糖体翻译。这就是 Britten-Davidson 模型的最简单形式，下面就这一模型作进一步推敲。

我们看到这一模型将一族 RNA 而不是原核生物中的一种蛋白质作为一种漫散的转录调节者。这个唯一的特点躲开了真核细胞核内蛋白质比结构基因的数目要少得多的事实，假定许多种短寿命的激活子 RNA 来自极不稳定的 HnRNA 库的话。这一模型在逻辑上也是完善的，即激活子 RNA 不需离开细胞核。如果一个蛋白质作为阻遏物或者去阻遏物，首先它必须在细胞质内的核糖体上从细胞核中来的 mRNA 形成，然后这样一种蛋白质又必须回到细胞核内以发挥其去阻遏物的作用。Britten-Davidson 模型的另一个重要特点是它也说明了结构基因只组成真核细胞整个基因组的一小部分，总 DNA 的大部分显然在调节中起着传感器、整合子和受体座位的作用。

Britten 和 Davidson 已将这一简单的模型加以发展到包括任何一个特定结构基因的受体基因的多样性以及整合子基因的多样性，从而使许多不同的基因组合的协调调节成为可能（图 35-15），这一挑逗性的假说在基因转录的调节方面比 Jacob-monod 模型所考虑到的灵活性程度要大得多。真核细胞的基因调节方面还提出过另一些有趣的模型，但由于真核细胞基因组的极端复杂性，在问题得到解决之前还须多年的努力。

真核细胞中基因的表达看来完全不像由信使 RNA 的寿命期限来进行有效的调节的。在真核细胞内，mRNA 的半衰期看来相当长；在原核生物中则相反，其 mRNA 的半衰期只有约 2 分钟。另外，许多证据提示，真核生物中的基因表达既可能在翻译水平，也可能在转录水平上进行调节。而且在真核生物中蛋白质合成的起始和延长时相比原核生物中的要复杂得多，似乎涉及许多迄今尚未确定的调节因子。

免 疫 反 应

细胞分化的一个特别惹人注目的例子就是免疫反应。这种反应给解决真核生物中基因表达的调节问题的遗传学和生物化学研究的相互合作提供了少有的机会。

免疫反应的基本成份和抗原-抗体反应已在第三章中论述过。抗体或免疫球蛋白是由一定物种的脊椎动物淋巴系统的浆细胞对一种抗原存在发生反应而产生的，而抗原对该物种来说是一种外来的蛋白质或一些其它的大分子。识别这样的一种抗体可根据它只与诱发其形成的抗原结合成专一复合物的能力。没有其它的蛋白质抗原与具有同样亲和力的这种抗体结合。免疫响应的一个显著特点是可以使动物对种类极其繁多的大分子发生免疫，其中包括动物在自然栖息条件下通常绝对不会碰到的各种人工合成的蛋白质衍生物。而且一个动物可以对许多不同的抗原同时免疫。的确，已经估计到一个物种可以形成多至百万种不同的抗体。正像在酶诱导的场合，过去曾认为一切的抗体分子氨基酸成分相同，不过当不同抗原存在时可以被“塑造”形成互补的抗体。但是由于发现了不同抗原引起的抗体，其氨基酸成份和顺序实际上是不同的，因此这种观点就必须抛弃了。

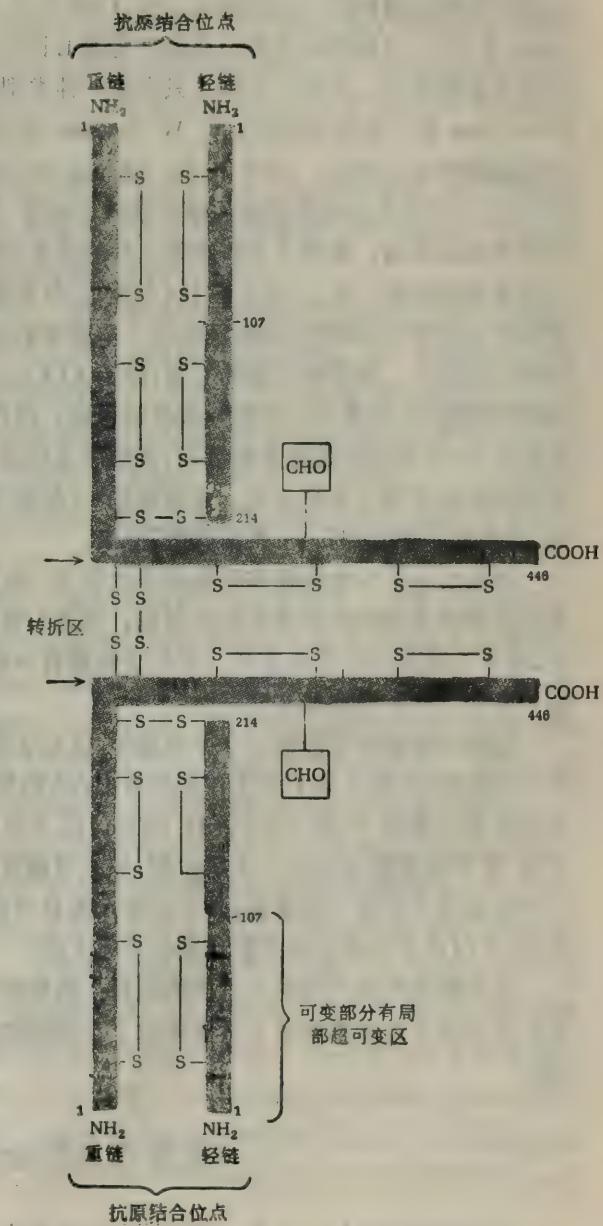
由于引起脊椎动物发生反应而合成专一性抗体的不同抗原是非常多，因此产生了一个问题，即产生抗体分子的浆细胞是否具备足够数的基因去给如此多的不同抗体编码。而且还提出了对某一特定的抗原发生反应而合成一定型式的抗体分子的机制问题。根据免疫球蛋白多肽链的氨基酸顺序的分析已经得到了解决这些问题的线索。

抗体的结构

人血浆中有五类主要的免疫球蛋白(IgG, IgA, IgM, IgD 和 IgE), 其中 IgG 球蛋白类最丰富, 了解也最清楚。它们的分子量大约 150,000, 有四条多肽链: 两条相同的“重”链(H 链), 含有 430 个左右的氨基酸残基; 两条相同的“轻”链(L 链), 含有 214 个左右的残基。这些链由二硫键连接成 Y 型的, 但容易改变的结构, 图 32-16 显示其模式结构。重链含有一共价结合的寡聚糖成分。每条链有一个氨基酸顺序恒定的区域, 和一个氨基酸顺序可变的区域。抗体分子有二个和抗原的结合位点, L 链和 H 链的可变部份属于这些结合位点, 后者还因超可变区而进一步区别开来, 在超可变区中氨基酸



图 35-16 IgG(rG) 免疫球蛋白的结构。重链和轻链的 1—107 节段是可变区, 其余节段是恒定区。两条链的超可变部分(黑横带)决定了结合抗原的专一性。因此 IgG 免疫球蛋白有两个结合抗原的位点。寡聚糖基团以 **[CHO]** 表示。箭头所指处为木瓜蛋白酶作用点, 将链裂解产生 Fab' 断片。左图是根据 X 射线分析推断的轻链和重链恒定区的模型。两条链的可变区也有相同的构型, 虚线所指为增加一额外的环。数字表示在 NH₂ 端开始的轻链残基, 这一 NH₂ 端也相当于 L 链的第 110 个残基。



置换的频率特别高。Y 的臂可用木瓜蛋白酶(一种蛋白水解酶)的作用除去,产生称为 Fab' 的片断,并已得到结晶。R. L. Poljek 和他的同事们用 X 射线分析法阐明了它们的结构。

正常人的血清中含有许多不同的 IgG 免疫球蛋白的混合物,都有图 35-16 中所示的基本结构。每种类型的免疫球蛋白与一定的抗原结合是专一的。从这种混合物中很难得到一个单一分子的免疫球蛋白分子以供分析。然而在多发性骨髓瘤病中,骨髓中的某些细胞变成癌性细胞而繁殖,产生过量的单一类型的免疫球蛋白而出现在血液中。这种病人的尿中含有大量的另一类型的蛋白质,1849 年由 H. Bence-Jones 发现,后来就称为 Bence-Jones 蛋白。这种异常的蛋白质是轻链或 L 链的二聚体,显然由于 L 链的过量制造遂被以很大量而排出。任何一个病人只合成一种类型的 Bence-Jones 蛋白质,没有两个病人的 Bence-Jones 蛋白质是相同的。F. W. Putnam 和其他研究者曾对许多 Bence-Jones 蛋白质作氨基酸顺序的测定,1968 年 G. Edelman 和他的同事们在确定一个多发性骨髓瘤病人血中 IgG 抗体的全部氨基酸顺序中获得了成功,将许多多发性骨髓瘤病人的 L 链和 H 链的顺序加以比较,发现了某些意料之外的关系(图 35-16)。在全部病人中 Bence-Jones 蛋白质羧基端的那一半,大约含有 214 个残基,氨基酸顺序本质上相同;而氨基端的那一半则在顺序上因病人不同而不同,虽然有一些顺序的同源性。此外在 L 链的两半之间也有某些顺序的同源性。有两种类型的 L 链,称为 κ (Kappa) 链和 λ (lambda) 链。这两种链有许多顺序的同源性,但第 191 位的残基特别不同。同样,骨髓瘤病人的 H 链,约含 446 个残基,大约有 108 个残基的氨基末端节段,在顺序上也因个体不同而变化;而其余的 300 多个残基其顺序在本质上是恒定的。每条链的 C(恒定)区和 V(变异)区据认为由不同基因来编码,这就是“两个基因—一条多肽链”假设。

每条 L 链及 H 链的顺序可变部分代表专一性抗原的结合位点。免疫球蛋白链似乎由原始前身物基因的复制或重复所编码,因为 L 链的可变及恒定部分以及 H 链的四个节段中,每个大约有 107 个残基长,它们之间都有一些顺序同源性。不过 L 链的可变区和 H 链的可变区之间却没有顺序同源性。

轻链可变顺序节段的 107 个残基中,已经证明其中的 40 个以上因每个多发性骨髓瘤病人不同而异。在一条 107 个残基的链中,40 的位置可以由二种不同的氨基酸占有,可以由此计算可能有 2^{40} 或一百亿(10 billion)以上的不同顺序。如果 40 个可变位点中每处均可被 20 个氨基酸中任何一个所占据,那么可能产生的不同顺序的数目是惊人的。因为每一个抗体分子还有一条重链,其中许多残基也可变动。十分明显,通过置换可变的氨基酸残基,可以产生各种抗体的数目是极为巨大的。

这些想法给我们提出了这样的问题:这样数目巨大的不同的抗体分子遗传上如何控制?是否每个人体都具备了控制理论上可能形成的百万以上个不同抗体所必需的全部基因?

抗体形成的细胞机制

认为抗原协助从一个单一的可塑性前体塑造成抗体形状的老的看法曾称为“指导”假说,这种老观点已经让位给无性繁殖系选择假说了。后一假说假定所有潜在地能形成抗

体的细胞(现在已知道是淋巴细胞)具有相同的基因,但它们是在许多不同的细胞系上出现的,称为无性繁殖系,每一系细胞只能产生单一型式的具有特殊氨基酸顺序的免疫球蛋白。所有其他类型抗体的基因永远受到阻遏。这种概念可以最适当地称作“一种细胞——一种抗体”假说。没有抗原时,每一无性繁殖系只存在少数,只产生小量的特有的抗体。在这一系接触过一种抗原之前就已规定要制造那种类型的抗体。当一专一抗原被引进一种脊椎动物时,它就刺激一专一的淋巴细胞的无性繁殖系增生,细胞数量增多,同时由那型无性繁殖系所形成的专一抗体也大量增多。这样受到刺激的淋巴细胞就转化成浆细胞,即真正的抗体制造者。可能抗原“选择”并刺激单株无性繁殖系的能力就在于它附着于细胞表面的专一受体上的能力,从而引起细胞分裂,和产生它的特殊抗体。这种想法可解释这样的事实,即一个动物可以同时对许多抗原免疫,每种抗原刺激不同类的淋巴细胞无性繁殖系增生,并产生一种特异抗体*。事实上,无性繁殖系选择理论得到用单一细胞进行的研究所支持。

现在我们看到为什么免疫反应是研究细胞分化的一个十分有用的模型。淋巴细胞的各种无性繁殖系全都具备相同的基因组,但在可遗传的方式上彼此不同,即只有一组抗体基因表达出来,其它基因都是静止的,并可能永远受到阻遏。

两种类型的淋巴细胞参与抗体的产生,即骨髓中形成的B淋巴细胞和起源于胸腺的T淋巴细胞。B淋巴细胞是浆细胞的各种不同的无性繁殖系的前体,每一种浆细胞只能制造一种专一类型的循环(或“体液”)免疫球蛋白。T细胞主要和细胞或组织免疫的产生有关,但对B细胞形成循环免疫球蛋白也是需要的。抗原和T细胞上的专一受体作用,并诱导这些细胞释放出一种“协调”因子。这种因子选择性地和那些已经通过专一的细胞表面受体结合了抗原的B细胞作用,并加以激活。激活的B细胞增生,它们的某些后代变为浆细胞,合成和分泌专一抗体。

对于一个脊椎动物个体能够产生有巨大差异的各种抗体,曾经提出三种可能的模型。一种模型假定每个产生抗体的细胞含有大量能规定许多不同的L链及H链的V基因和C基因。但每个细胞通过一种遗传方式规定了只产生一种专一抗体。在这一模型中,每一个无性繁殖系中只有二对基因可能会被转录;一个C基因和一个V基因为一专一的重链编码,而另一对C和V基因给一轻链编码。所有其它的抗体基因永远受到阻遏。第二个模型提出对两套链的恒定部分来说只有少数的C基因,而可变部位却有大量的V基因。

然而,这两个模型都要求脊椎动物的基因组中有相当大一部分用来专给抗体编码。因为免疫反应对高等动物来说有巨大的生存价值,容许他们抵抗细菌和病毒感染,所以将它们基因组中相当大一部分用于抗体编码也就不足为奇了。不过上面两种模型的证据已经有点靠不住了,因为发现只有少数几个C基因和比较少的、肯定不到100个的V基因。为了解释可能形成的大量抗体类,有一个模型提出由一种抗原诱导的一个B细胞无性繁殖系很快地增生时,在V基因(特别是在超易变部分)发生许多突变,结果引起多种多样的抗体,其中至少有一种与抗原结合是比较专一的。另一个模型提出V基因通过重组过程经受了广泛的交换和基因片段的重新组合。不管抗体多样性的解释如何,这个问题的解决必将大大澄清细胞分化的遗传和生化基础,而且也可由此获得医学上有用的改变寄主免疫

* 原文为antigen,显然有误。——译者注

反应的途径和方法。

摘要

组成酶指的是和细胞的代谢状态无关，一直由细胞产生恒定数量的一些酶；诱导酶则只有在需要时才产生，是对酶的底物存在时，尤其当酶的底物是唯一碳源时的应答产物。当细胞不再需要某些酶的产物时，这些酶就不再形成，也就是说，它们受到阻遏。有时，整整一连串的酶成群地诱导出来（协调诱导）或成群地被阻遏（协调阻遏）。控制这样一群群酶的一组基因称为操纵子。研究大肠杆菌的诱导酶 β -半乳糖苷酶发现了调节诱导酶合成的机制。每一个操纵子包含多个结构基因和一个调节基因和一个操纵基因；结构基因通常互相毗邻，控制每一个酶的合成。调节基因给一阻遏蛋白的合成编码，阻遏蛋白通常和操纵基因专一地结合，阻止结构基因的转录。如果存在可诱导的酶的底物，它就和阻遏物分子结合，使阻遏物和操纵基因松开，游离出结构基因以供转录。另一方面，在酶的阻遏中，酶系列的终末产物和游离的阻遏物分子结合，所形成的复合物则和操纵基因结合，防止操纵子的转录。*lac* 操纵子控制 β -半乳糖苷酶和另二个有关酶的合成，现已分离出 *lac* 操纵子的阻遏物，并确定了它在操纵基因 DNA 上的结合位点的核苷酸顺序。*lac* 操纵子的控制区也包括 cAMP 和一专一蛋白质的复合物的结合位点和 RNA 聚合酶的结合位点。从细菌 DNA 转录的信使 RNA 其半衰期很短，只有 2 分钟左右。如果不供给细菌细胞以氨基酸时，它就停止形成核糖体 RNA；这种约束性控制的信号因子是鸟苷 2'-(3')-二磷酸 5'-二磷酸(ppGpp)

真核生物中基因表达的调节极为复杂。当有专一的底物和某些激素时动物的真核细胞显示酶的诱导作用，某些激素和受体蛋白质结合；形成的激素-受体复合物和染色质中的专一位点结合，从而促使某些基因的转录。在细胞周期中专一酶活性也发生或有或无的变化；介体是 cAMP 和 cGMP。真核生物在分化和发育时某些基因被转录而另一些基因则受阻遏，而且阻遏往往是永久性的，这种情况有专一的顺序和时间的选择，表现为非常复杂的型式。真核细胞并没有单个操纵子，控制酶系列的基因分散在不同的染色体上。曾经推测是阻遏物的染色质中的组蛋白和其它蛋白质可能是结构成份而不是调节成份。不过已经推测一部分不均一的核 RNA 在诱导真核生物的基因转录中起着信号分子的作用。脊椎动物形成专一性抗体是细胞分化的一种特化类型的反映，其中每型淋巴细胞能够产生一种特殊种类的抗体。这可以通过小数目基因类的联合作用使其成为可能，这些基因的某些部分显然是极容易突变的或进行迅速的基因重组。

参考文献

书籍

- Bautz, E. K., P. Karlson, and H. Kersten (eds.): *Regulation of Transcription and Translation in Eukaryotes*, Springer-Verlag, New York, 1973. A series of symposium articles.
- Lewin, B.: *Gene Expression*, vol. 1, *Bacterial Genomes*, Wiley, New York, 1974.
- Lewin, B.: *Gene Expression*, vol. 2, *Eukaryotic Chromosomes*, Wiley, New York, 1974. This pair of valuable books provides a comprehensive, balanced account of the experimental work in this area, together with a large bibliography.
- Regulation of Gene Expression, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, vol. 38, 1973. Many valuable

articles.

论文

- Britten, R. J., and E. H. Davidson: "Gene Regulation for Higher Cells: A Theory," *Science*, 165: 349—357 (1969).
- Burger, M. M., B. M. Bombik, B. M. Breckenridge, and J. R. Sheppard: "Growth Control and Cyclic Alterations of Cyclic AMP in the Cell Cycle," *Nature New Biol.*, 239: 161—163 (1972).
- Davidson, E. H., and R. J. Britten: "Organization, Transcription and Regulation in the Animal Genome," *Quart. Rev. Biol.*, 48: 565—613 (1973).
- De Crombrugge, B., B. Chen, W. Anderson, P. Nissley, M. Gottesman, I. Pastan, and R. Perlman: "lac DNA, RNA Polymerase, Cyclic AMP Receptor Protein, Cyclic AMP, lac Repressor and Inducer Are Essential Elements for Controlled lac Transcription," *Nature New Biol.*, 231: 139—142 (1971).
- Dickson, R. C., J. Abelson, W. M. Barnes, and W. S. Reznikoff: "Genetic Regulation: The lac Control Region," *Science*, 187: 32 (1975). The nucleotide sequence of the control DNA.
- Edelman, G.: "Antibody Structure and Molecular Immunology," *Science*, 180: 830—840 (1973). Nobel prize lecture.
- Edelman, G. M., B. A. Cunningham, W. E. Gall, P. D. Gotthieb, U. Ruttishauser, and M. J. Waxdal: "The Covalent Structure of an Entire γ G Immunoglobulin Molecule," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 63: 78—85 (1969).
- Gilbert, W., and A. Maxam: "The Nucleotide Sequence of the lac Operator," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 70: 3581—3584 (1973).
- Gilbert, W., and B. Müller-Hill: "The lac Operator Is DNA," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 58: 2415 (1967). The specific binding of the isolated lac repressor to the operator site of DNA.
- Gilbert, W., N. Maizels, and A. Maxam: "Sequences of Controlling Regions of the Lactose Operon," *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 38: 845—855 (1973).
- Gros, F.: "Control of Gene Expression in Prokaryotic Systems," *FEBS Lett.*, 40: S19-S27 (1974).
- Holliday, R., and J. E. Pugh: "DNA Modification Mechanisms and Gene Activity during Development," *Science*, 187: 226—232 (1975).
- Hood, L. E.: "Two Genes, One Polypeptide Chain—Fact or Fiction?", *Fed. Proc.*, 31: 177—187 (1972).
- Jacob, F., and J. Monod: "Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins," *J. Mol. Biol.*, 3: 318 (1961). Classic paper postulating the function of repressors, operators, and structural genes, as well as the messenger concept.
- Kornberg, R. D.: "Chromatin Structure: A Repeating Unit of Histones and DNA," *Science*, 184: 866—872 (1974).
- Kornberg, R. D., and J. O. Thomas: "Chromatin Structure: Oligomers of the Histones," *Science*, 184: 865—868 (1974). This and the preceding are two important articles on the molecular organization of chromatin.
- Pain, V. M., and M. J. Clemens: "The Role of Soluble Protein Factors in the Translational Control of Protein Synthesis in Eukaryotic Cells," *FEBS Lett.*, 32: 205—212 (1973). An excellent short review of a complex subject.
- Pastan, I., and R. Perlman: "Cyclic AMP in Bacteria," *Nature*, 169: 339—344 (1969).
- Ptashne, M.: "Isolation of the λ Phage Repressor," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 57: 306 (1967).
- Riggs, A. D., and S. Bourgeois: "On the Assay, Isolation and Characterization of the lac Repressor," *J. Mol. Biol.*, 34: 361—364 (1968).
- Rutter, W. J., R. L. Pictet, and P. E. Morris: "Toward Molecular Mechanisms of Developmental Processes," *Ann. Rev. Biochem.*, 42: 601—646 (1974). A particularly valuable review of biochemical approaches to differentiation and development.
- Shapiro, J., L. Machattie, L. Eron, G. Ihler, K. IPPEN, and J. Beckwith: "Isolation of Pure lac Operon DNA," *Nature*, 224: 768—774 (1969).
- Simpson, R. T.: "Structure and Function of Chromatin," *Adv. Enzymol.*, 38: 41—108 (1973).
- Stein, G. S., T. C. Spelsberg, and L. J. Klainsmith: "Nonhistone Chromosomal Proteins and Gene Regulation," *Science*, 183: 817—823 (1974). An alternative to the Britten-Davidson model.
- Tomkins, G. M.: "Regulation of Gene Expression in Mammalian Cells," *Harvey Lect.*, 68: 37—66 (1974). Role of glucocorticoids.

习题

1. 在细菌中，含有230个氨基酸残基的一种蛋白质的生物合成速率受生物学调节的支配。假定在正常条件下每分钟转录了10个mRNA分子，并且每一个mRNA分子可由15个核糖体阅读。那么如果蛋白质的合成完全停止在(1)转录水平，(2)翻译水平或(3)翻译后水平即整个蛋白质在合成后降解。则每分钟消耗的ATP、核苷酸碱基和氨基酸各有多少？

2. 用核糖核酸酶T₁裂解一RNA，得到下列寡核苷酸片段：ACG, UCAG, pppCG, CUG。这个RNA是从参与和一蛋白质分子进行位点专一性反应的细菌DNA的一个区域转录来的。假定蛋白质结合位点显示双重(旋转的)对称，试推导蛋白质结合位点的DNA的可能顺序。

3. 顺-显性突变是指这样一些情况，即表型的缺陷不能用一野生型基因（这种基因在另一DNA分子上或在同一DNA分子上但处于异常的位置）的蛋白质来缓解。操纵基因处的突变就是一个例子。在lac操纵子上还有二个位点可以是顺-显性突变的位点，试例举其名。

4. 发现了一种鼠伤寒沙门氏菌的突变型，在组成上能合成组氨酸生物合成时所需的全部酶系。被突变的基因定在远离his操纵子结构基因的一个座位上。在野生型鼠伤寒沙门氏菌中阻遏时另一基因的产物和操纵基因区结合。将组氨酸加至组成突变型的培养基中去时并不引起阻遏，但加入组氨酰-tRNA_{His}时可引起阻遏。(a)组成突变型中被突变的基因的实质可能是什么？(b)从一株野生型分离his阻遏物蛋白质，制备其抗体。竞争性抗体结合检定时证明从在(a)中描述的去阻遏突变型制备的提取液中阻遏物的量比从一株阻遏的野生型制备的提取液多好几倍。上述现像的可能解释是什么？

5. 大肠杆菌株A在任何条件下都不能代谢乳糖，但它能代谢半乳糖，当后者是唯一的能源时。(a)列举能够引起这一不足的一切可能型式的遗传缺陷；(b)根据细胞能代谢半乳糖的资料，你可以排除在控制lac酶的合成中那些可能的缺陷？(c)根据下述(1)到(4)的实验，你可以排除那些可能的缺陷？

(1) 利用从起作用的lac基因转录下的mRNA进行的杂交试验证明：和过剩的A株DNA混合时，这种RNA基本上全都形成了杂种。

(2) 有一种嗜菌体 δ 含有lac调节区，但只有 β -半乳糖苷酶基因的开始几个碱基引进了A株。重组后，A(δ)株就能裂解乳糖。

(3) 将A株的整个lac操纵子安置在大肠杆菌的能自发地复制的质粒中，再将这一质粒引入重组有缺陷(即不能重组的)的细菌株中去，受体株缺失了i基因，因此在组成方面能合成lac操纵子结构蛋白质。引入质粒之后，某些后代细胞含有质粒和染色体两者的复制译本，在这些细胞中有乳糖时就合成lac结构蛋白质，但无乳糖时则不合成。

(4) 自一株野生型分离的³⁵S标记的CAP通常在蔗糖密度梯度中5S处沉降，当和得自A株的纯化lac DNA保温时，放射性的沉淀行为不受影响。除了lac DNA之外还和cAMP一起保温，此时放射性的沉淀系数增至80S。

(d) 限制性核酸内切酶Hind II能将从噬菌体 δ 或从A株构成的转导噬菌体中提纯的DNA在一处切开，当将大肠杆菌RNA聚合酶的全酶加至 δ DNA中时，这种蛋白质

DNA 复合物对 Hind II 的作用就有抗性。加 RNA 聚合酶并不影响 Hind II 对自 A 株分离的 lac DNA 的作用。试问 A 株中原始损害最可能的本质是什么？

6. 从外来的单股噬菌体 FFC 88 提取的 DNA 含有九种类型的修饰碱基。现分离出一段有21个核苷酸长的区域，已知这段和一阻遏物蛋白质结合。色层分析得出下列相对成份：E 和 D(每个 1.0); V, L, R, I, N 和 A(每个 0.5); Y(0.25)。从这一区域得到的三核苷酸有 $5' \rightarrow 3'$ 顺序 \cdots DNA \cdots 。假定阻遏物和单股 DNA 上完全对称的顺序结合，试问整个阻遏物结合的区域，其可能的碱基顺序如何？

〔姚开泰译 任邦哲校〕

第三十六章 形态发生的分子基础

现在我们来讨论由于发现了 DNA 是遗传物质而指出的第三个根本问题。以核苷酸线性顺序并以一维空间形式编码的 DNA 的遗传信息,如何翻译成一些超分子结构(诸如酶复合物、病毒、核糖体、生物膜以及组织、器官和机体等较高级的生物结构)所特有的三维空间形式?

形态发生的术语是用在一组过程的通称;通过这些过程,活机体的特征性微结构和大结构就在空间和时间中生长着和发育着,作为遗传程序的结果。形态发生分子基础的一个重要关键在于多肽链的性质是固有的。我们已经看到,这些多肽链通过自发地折叠成特征性的有生物活性的球状构型,具有将它们的氨基酸顺序中包含的一维信息转化为三维信息的能力。天然多肽链的三维空间构型并不是由外力强加给它的:而是周围水分子寻找最大熵值状态的倾向和多肽链寻找它最小自由能状态的倾向所导致的不可避免的并自动发生的结果。本章中我们将看到巨大的有丰富信息的结构能够自发地用它们的组份装配自身,这样一些自身装配过程并不动摇热力学原理。实际上它们是和控制多肽链的折叠、周围水分子寻找最大熵值状态的倾向和组分部分寻找它们最小自由能状态倾向相同的一些过程的后果。各种组分互相“配合”的精确度由它们结构的互补性提供。

形态发生分子基础的研究已成为生化学研究的前沿领域之一。本章中我们将概括自身装配系统中涉及到的某些分子原理,然后考查能够从纯化的组分进行自身装配的某些大的超分子系统。

大分子和超分子系统的亚基结构

大小范围在蛋白质和细胞器之间的大分子生物结构,几乎全都含有若干多肽亚基,这些亚基,单独地或和其他分子组分一起,通过非共价力连结起来。血红蛋白含有四条多肽链,紧密地而非共价地连结。调节酶门冬氨酸转氨甲酰酶含有 12 个多肽链亚基,分属于两种不同的类型,每种有六个多肽链亚基。某些蛋白质形成多聚物;乙酰辅酶 A 羧化酶在细胞内聚合形成长丝状结构。比较简单的病毒,如烟草花叶病毒,由一分子核糖和许多相同的鞘-或外壳蛋白亚基构成。更复杂的病毒可含有许多不同种类的蛋白质亚基,细菌核糖体含有 50 多个蛋白质亚基和 3 个 RNA。在上述的所有情况中,这些超分子系统的亚基几乎都由非共价的但高度专一的相互作用结合在一起。而且在这样一些系统中常有结构组织的等级性。例如,虽然门冬氨酸转氨甲酰酶有 12 个肽链;结合的方式是酶有二个催化亚基和三个调节亚基;每个催化亚基有三条相同的多肽链,每个调节亚基则有二条相同的多肽链,而且和催化亚基的不同。因此我们常常遇到一种含有亚部件的超分子结构。

亚基的优点

为什么超分子结构由许多非共价方式连接起来的小的亚基构成,而不是全部通过共

价键连结起来的单个巨大的“单一化”的超分子呢？亚基形式的结构可能有四个主要的生物学优点。一个优点是利用许多相同的多肽亚基能够将蛋白质分子生物合成中可能发生的随机误差效应减少到最低限度。让我们考虑构成含有 100,000 个氨基酸残基的非常巨大的蛋白质结构的二种可能的方式。在第一种方式中，蛋白质结构是通过逐个氨基酸残基的共价结合而形成的一条多肽长链。在第二种方式中 1,000 个多肽链（每条链有 100 个氨基酸残基）是分别形成的，然后非共价地装配成一个低聚蛋白质。假定在多肽链的生物合成中发生了随机错误，每 100,000 次中平均有一次插错了氨基酸。还假定每次错误形成一个无生物活性的或无用的产物。按照第一种方式，每个完整的分子平均就会含有一个错误的氨基酸残基，因此产生的大多数分子就会没有活性。按照第二种方式，在合成 1,000 个亚基时平均只有一个亚基会发生错误。

由亚基构成还有第二个主要的优点。如果“坏”的亚基可以某种方式排除的话则合成中的误差就可进一步减少到最低限度。打个比方，像安装电视的装配线那样，在装配的每个阶段，有缺陷的元件就被排除，至少在原则上不让它装配进成品。同样，在低聚蛋白质分子的自身装配中，只有“好”的能和它们的邻居配合的亚基才容易找到它们进入最终产物的途径。有缺陷的不合套的亚基就会被排除。例如，在有些烟草花叶病毒的突变型中，每个亚基链中更换了一个专一性氨基酸残基。某些突变型中所形成的多肽链就不再装配进入用来产生完整病毒颗粒的稳定的鞘，而且当和“好的”亚基混合时，突变型的亚基就被排除，不再出现于成品中。

还有第三个优点。巨大的低聚蛋白质系统的亚基结构大大节省了 DNA。在我们上面提到的例子中，一条有 100,000 个残基的多肽链会需要一段含有 300,000 个碱基对的 DNA 为之编码。另一方面，如果这一结构包括 1,000 个相同的多肽链，每个多肽链有 100 个残基，那么只需一段含有 300 个碱基对的 DNA 就足够了。这样，如果一个 DNA 模板可以反复用来为相同的亚基编码的话，就大大地节约了遗传物质。

还有另一个重要的原则。许多超分子系统必须参与非常迅速的反应，例如肌肉收缩，鞭毛运动，蛋白质合成时 mRNA 的解读，神经冲动的传导以及 DNA 的解开，全都需要构型的迅速改变或者形成和裂开的相互作用。这些非常迅速的过程几乎全部是通过亚基组分的非共价解离和再结合或通过亚基构型的非共价改变来进行的。疏水性相互作用以及氢键的形成和裂开本来就比酶类催化的共价改变要快得多，从能量上来说，消耗也少得多。

亚基自身装配的驱动力

我们早已看到两类非共价连合参与蛋白质单体和低聚蛋白质天然结构的形成和稳定：(1) 疏水性相互作用；(2) 氢键和离子相互作用。在双螺旋核酸的特殊场合，我们再增加第三种类型的相互作用，即成垛的碱基之间的电子相互作用。这种非共价的相互作用也参与巨大的多亚基结构，如酶复合物、核糖体、病毒和生物膜等的形成和稳定。

将热力学第一定律和第二定律结合起来，以下式表示：

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

式中 ΔG 为自由能的变化， ΔH 为焓的变化， ΔS 为熵的变化或系统中的无序。当超

分子系统自身装配成一稳定的终末产物时，亚基系统的自由能下降至极小。发生这种自由能的下降必然是焓下降(即 ΔH 的负值)或熵增加(即 ΔS 的正值)或者二者同时发生的结果。在大多数超分子系统中，自身装配的主要驱动力在于疏水性相互作用，后者由周围水分子寻找它们自己的最大熵值状态所驱动。因此大多数超分子系统的自身装配是熵驱动的，并随着水环境中 ΔS 的大量增长而进行下去。只有一种一般类型的装配过程主要由 ΔH 下降所驱动，就是从单股结构形成双螺旋或双股螺旋形的核酸。

虽然疏水性相互作用提供了低聚系统绝大部分的驱动力和稳定性，但它们相对地说来是非专一性的，即非方向性的，因此对于保证亚基的准确配合并无很大贡献。另一方面，氢键及离子的相互作用，虽然在稳定超分子结构中能量方面的重要性较小，却有高度的专一性和方向性；它们既给予几何的专一性又供给正确的配合。

超分子系统自身装配中的信息来源

许多超分子系统从其亚基进行自身装配，并不需要什么外界指导。在这样一些场合下，所需要的全部信息必然在它们的亚基结构里。自身装配的信息可以只由蛋白质亚基提供，像调节酶门冬氨酸转氨甲酰酶这样一些低聚蛋白质的自身装配，这一点是很明显的，因为门冬氨酸转氨甲酰酶除了含有多肽链外再无其他组分。在核糖体中蛋白质亚基和核糖体 RNA 两者都带有规定装配过程的信息，在烟草花叶病毒中也一样。然而在生物膜的自身装配中，磷脂分子供给信息，因为它们本来就具备在完全没有其他组分时自身装配成双分子层系统的能力。一摩尔全脂膜含有约 1,000,000 个磷脂分子，其中固醇占

不过，就大多数超分子系统的装配来说，蛋白质亚基才是所需信息的主要载体。例如，低聚蛋白质血红蛋白和醛缩酶，它们的亚基之间并无共价连锁，在溶液中混和时保留它们的分子实体；彼此间也没有可测量出的交换亚基的倾向。正常成人血红蛋白含有二条 α 链和二条 β 链；其结构以符号 $\alpha_2\beta_2$ 表示。没有什么正常环境下溶液中的血红蛋白分子会重新装配形成 α_4 、 β_4 、 $\alpha\beta_3$ 或 $\alpha_3\beta$ 低聚体的，血红蛋白始终是以 $\alpha_2\beta_2$ 形式出现。因此血红蛋白的 α 和 β 亚基含有十分专一的信息，只容许一种类型的装配产物。而且血红蛋白分子的亚基彼此配合得如此地专一，以致当二种不同的哺乳类物种的天然血红蛋白在正常的 pH 和离子强度下混合时，它们也不会明显地交换亚基而形成杂种，即使不同物种的血红蛋白在构型上几乎相同，在它们的氨基酸顺序中也有许多雷同之处。

因此我们可以有这样的结论，即超分子系统多肽亚基的氨基酸顺序带有两个水平的信息。在一个水平上氨基酸顺序规定各个别肽链的三度空间构型，即它们的三级结构。在另一个水平上，三级结构中的每条多肽链必然含有一个或一个以上的识别和结合位点，邻近的多肽亚基借此位点结合成专一的几何关系而形成系统的特征性的四级结构。二个相邻亚基结合位点之间的非共价相互作用，在它们互相配合中，通过氢键和离子相互作用，必然有一极高度的专一性和精确性，以及由疏水性相互作用提供的高度稳定性。提供这些结合位点的氨基酸残基不一定限于一小节段的多肽链，因为亚基结构中多肽链的折叠，故可由若干节段多肽链提供。

亚基装配顺序

自身装配过程的另一特点是装配组分时它们常常按照一专一的顺序进行，可能这已经编码在亚基的多肽链的一级结构中了。这样一些专一的装配顺序可能是在装配成成品过程中，把亚基间碰撞和连结的反复试验的“错误”次数减少到最小的方法，这样就减少了系统装配自身所需的时间。我们回想一下多肽链折叠成它们特征性的三维空间构型非常迅速，花的时间远远少于多肽链在达到正确的最少自由能形式之前试验所有可能的构型所需的时间。基于同样的理由，我们可以假定多肽亚基找到它们在一超分子结构中的最终位置是根据一条专一的途径，或者根据迅速导致最后的正确的三维空间结构的事件顺序的。

我们将看到更为复杂的超分子结构，例如核糖体和比较大的噬菌体，是按照预先编码的顺序进行自身装配的，可能是为了保证在有限时间内完成装配，这段时间符合装配过程只是其一部分的生物学过程的动力学。因此大肠杆菌细胞的核糖体和病毒必须在这些细胞的分裂时间内装配完，而这段时间可能短到只有 20 分钟。

自身装配系统中的合作性

我们已经看到合作性的原理使有可能形成非常稳定的大分子结构，这些结构只不过通过许多弱的化学键或相互作用连结起来。在合作系统中二个结构之中形成一个弱键有利于形成第二个键，随后后者又增加了形成另一个键的机率等等，从而结构的稳定性，通常还有结构形成的速率，两者都大为增强。

合作性也是自身装配系统的一个重要特点，并表现在二个水平上。二个亚基互相结合常常是合作的，因为亚基间可以是几个或许多弱键。但合作性也可表现在较高级结构的装配中，即两个亚基的连合加强了第三个的进入，随后后者又加强了第四个的进入，等等。最后结果是大分子系统的亚基经过比较缓慢的起始过程或核晶（nucleation）过程阶段后，常以越来越快的速率装配，以达到稳定性越来越大的结构。作为合作性的另一结果，超分子结构自身装配中的中间阶段在正常时观察不到，只有为此目的用实验方法扰乱此系统时才能看到。因此合作性的原则赋予自身装配过程一种全或无的性质，绝不留下不完整的结构或备用部分。

低聚蛋白质中优先的装配途径

调节酶——门冬氨酸转氨甲酰酶（ATC 酶）是研究得最详尽的调节酶之一。它含有六条催化链（或 c 链）和六条调节链（或 r 链），分别组合成机能亚基。催化亚基（用 C 表示）含三条 c 链；调节亚基（用 R 表示）含二条 r 链。完整的有功能的 ATC 酶分子用 C_2R_3 表示。（图 36-1）

即使这个比较小的低聚系统，从它的多肽链进行自身装配也有优先途径，从而整个分子十分迅速地从它 12 个多肽链组分装配起来。在 Schachman 实验室里，将物理化学方法

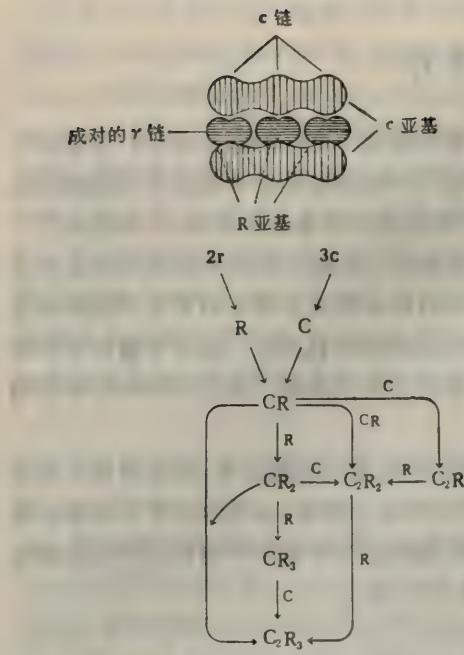


图 36-1 门冬氨酸转氨甲酰酶结构的图解,以及它从六条 c 链和六条 r 链形成所取的途径的装配图。

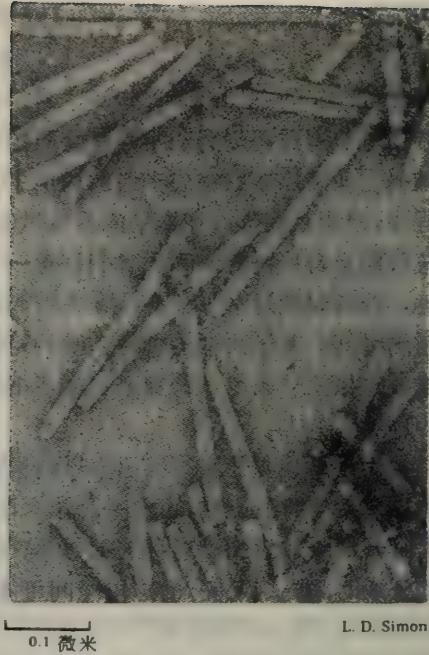


图 36-2 烟草花叶病毒的电子显微镜图。棒长 300 毫微米, 直径为 13 毫微米。
L. D. Simon

结合起来,并采用同位素标记的亚基对这些途径已经进行了研究。图 36-1 为装配图显示整个 C_2R_3 分子被装配起来的可能途径。C 和 R 亚基开始分别从相应的 c 和 r 多肽链装配, 只有完整的 C 和 R 亚基才能够参与形成最终产品。C 亚基彼此间并不互相作用, 因此排除了包括 C_2 亚部件的装配途径; 同样 R 亚基也不互相单独连合。第一步似乎是形成 CR。接着采取那种途径(图 36-1)在很大程度上取决于系统中 C 和 R 的相对浓度。当 C 过多时第二步即形成 C_2R ; 当 R 过多时有利于形成 CR_2 。其余的步骤见图 36-1。

ATC 酶的整个分子几秒钟之内就从 C 和 R 亚基装配好, 或者装配时间比从作为组成的氨基酸合成多肽链所需的时间要短得多。一旦形成完整的 C_2R_3 分子, 其亚基就不再和同位素标记的、游离的 C 或 R 亚基以任何可测得出的速率进行交换。

烟草花叶病毒的自身装配

在体外能从本身的组分进行自身装配的第一个巨大的超分子结构是烟草花叶病毒(TMV)。1955 年 H. Fraenkel-Conrat 和 R. C. Williams 报导可以将 TMV 分离为它的鞘蛋白和 RNA 组分, 然后只要简单地将这些组分混在一起, 就能重新组合产生有生物活性的有感染性的病毒颗粒。TMV 颗粒(分子量四千万; 长 300 毫微米)由将近 2,200 条相同的多肽链以及一条 RNA 链组成; 每条肽链有 158 个氨基酸残基, RNA 链分子量为 210 万, 约占病毒全重的 5%。病毒颗粒为一长棒状(图 36-2), 其中有一球状蛋白亚基的圆柱体, 围绕着由卷曲的螺旋状 RNA 链所构成的核心排列。TMV 颗粒经去垢剂或弱碱溶液处理后, 可解离为其多肽链及 RNA。单单只有多肽链并无感染性。单单只有 RNA 虽有感染力, 但很微弱; 使用的许多 RNA 分子中只有一个得以进入烟草叶的宿主细胞中。

Fraenkel-Conrat 和 Williams 发现当将 TMV 的溶解的蛋白质亚基和纯粹的病毒 RNA 混合时,混合物就明显地变混浊,类似完整 TMV 病毒颗粒混悬液的乳白色。将此混合物放至烟草叶的表面上,可以引起典型的病毒病变,而单独使用蛋白部分却没有什么表现,单独使用 RNA,改变也很小。可以得到大量有活性的重组的病毒颗粒,多达 50%。据电子显微镜观察,假定了烟草花叶病毒是按图 36-3 中的图解进行自身装配的。据认为,蛋白质亚基接连地装配,作螺旋排列而形成空管状,并和管中卷曲的 RNA 分子结合。当棒状结构达到 300 毫微米长时,装配过程就停止,显然是受到 RNA 分子长度的限制。结论是,将蛋白质亚基装配成棒状螺旋形排列所需的全部信息就存在于蛋白质亚基内,因为在没有 RNA 时,只有亚基就能自发地进行自身装配而形成空管。这些管状结构的长短不定,而且是不感染的。

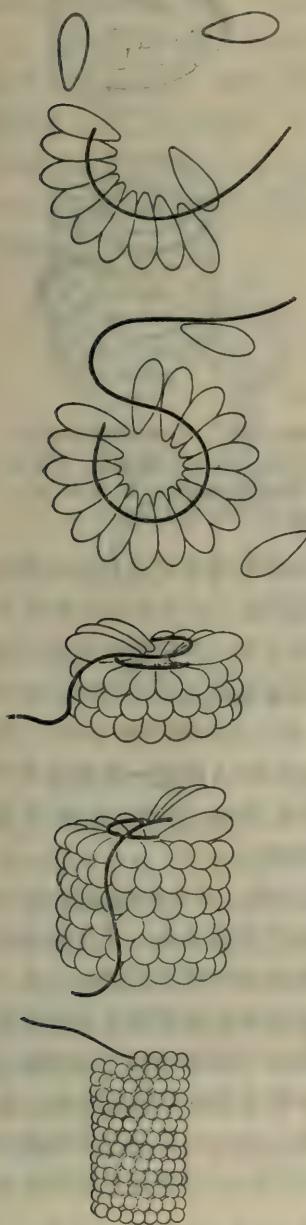
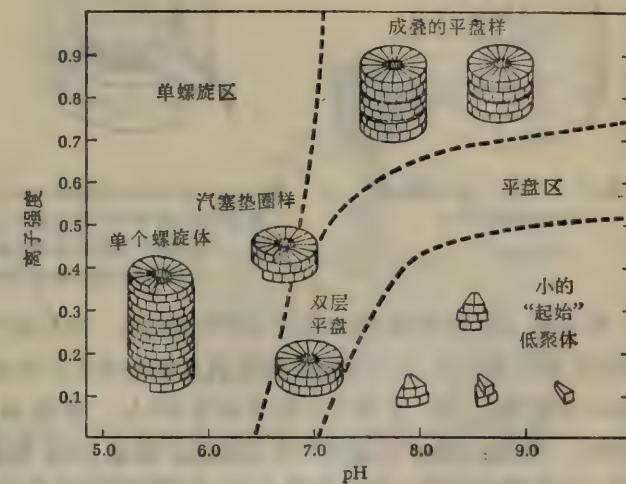


图 36-3 烟草花叶病病毒装配的早期概念,假定逐一加上一个个蛋白质亚基。

图 36-4 20°C 时不同种类的 TMV 蛋白质多聚体居支配地位时 pH 和离子强度的范围



但是英国的 A. Klug 和他的同事们最近研究发现 TMV 的装配较过去想像的要复杂得多,有许多中间步骤。Klug 和他的同事们就改变 pH 和离子强度对 TMV 蛋白质亚基结合的效应进行了详细的物理化学和电子显微镜的研究,确定了若干不同类型的结合产物,他们还能把这些产物在装配过程中放进一种专一的顺序中去。图 36-4 显示不同的 TMV 蛋白质(无 RNA 时)多聚体种类的结构,是 pH 和离子强度的函数。曾经观察到两种型式的长管状结构,一种为螺旋状,另一种为成堆的平盘状。螺旋状管结构的基本单位似乎是一种“汽塞垫圈”结构,由螺旋状排列的双层亚基组成。另一管状结构的构成单位是一种双层平盘。完整 TMV 的正常结构为螺旋形。

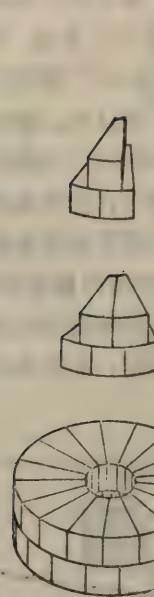


图 36-5 TMV 的多肽亚基
装配成双层平盘

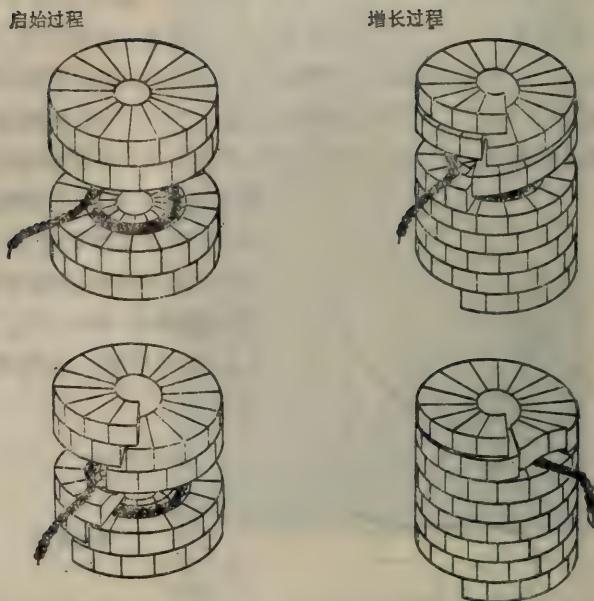


图 36-6 烟草花叶病毒的启动过程和增长过程。一完整的双层平盘(34个亚基)首先和 RNA(黑色部分)上的起始位点结合以启动装配。然后加上另一个盘,两个盘都发生错位变化而产生汽塞垫圈样结构。RNA 嵌入两层亚基之间,相继的亚基抬高,让 RNA 进入核心

在中性 pH 即接近宿主细胞内容的 pH 时, 双层的三聚体似乎是装配过程中必需的启动者(见图 36-5), 这一步骤并不需要病毒 RNA。降低 pH 可使这样一种平盘转变成汽塞垫圈样。随后, Klug 和他的同事们研究了病毒 RNA 和蛋白质亚基的各种不同形式的多聚体之间的相互作用。他们发现 RNA 易于和双层平盘结合。而且这种结合相当专一; 即发生在 RNA 分子的 5' 端, 延伸大约 50 个核苷酸残基处。显然 RNA 的这一末端含有专一的核苷酸顺序, 能和平盘相互作用以启动病毒的增长。因此 RNA 并不只是被关进 TMV 颗粒的核心中去, 对于自身装配过程的启动来说也是需要的。

TMV 颗粒的装配中的下一步骤需要连续迭加完整的双层平盘, 每个平盘含有 34 个蛋白质亚基, 这一情况和早期的假说不同, 这一早期假说设想蛋白质亚基是一个个地加到顺序中去的。不过, 完成的病毒颗粒是螺旋形的, 由亚基按汽塞垫圈样排列组成而不是由平盘组成; 显然, 在平盘加到生成中的 TMV 颗粒后, 平盘必须转化成汽塞垫圈样的构型。这种转变由于亚基分子的构型改变而发生, 同时伴随着在每个亚基中两个荷电基团的电离状态的改变。这一构型改变伴随着 RNA 和紧靠双层平盘下面的亚基的结合。因此每个双层平盘中的构型改变由下一个双层平盘的结合所触发。这一连串的改变引起双层平盘呈螺旋状或汽塞垫圈样的构型, 而且导致在结构核心内的 RNA 有规则地螺旋状卷曲。(图 36-6)

因此, 简单的烟草花叶病毒通过一连串专一的中间步骤进行自身装配, 这些中间步骤只有在改变 pH 和离子强度扰乱了装配过程时才能观察到。

T4 噬菌体的自身装配

R. S. Edgar 和 W. B. Wood 以及后来其他的研究者,研究大肠杆菌 T4 噬菌体组分的遗传决定和装配的重要工作,代表着在形态发生的分子和遗传基础方面另一有重大意义的进展。不论在结构方面或在遗传方面,T4 病毒比 TMV 复杂得多。病毒有一中空的多面形的头部,由若干不同类型的蛋白质亚基组成,DNA 分子被折叠到其中去(图 36-7)。尾部好像一个带弹簧的皮下注射器;有一收缩性鞘围绕着中心管道,DNA 经此管道被注入宿主细胞。尾部与终板连接,终板上附着六根细长的尾丝和六根短刺状结构,两者都适合于固定到细胞壁。T4 在遗传上也很复杂,因为它含有 100 多个基因,而 TMV 却只有很少几个基因。T4 基因不但给病毒的全部蛋白质编码,也给在寄主细胞中合成病毒的 DNA 所需的许多酶和引起寄主细胞壁的溶胞作用以释放出后代病毒颗粒所需的一些酶编码。

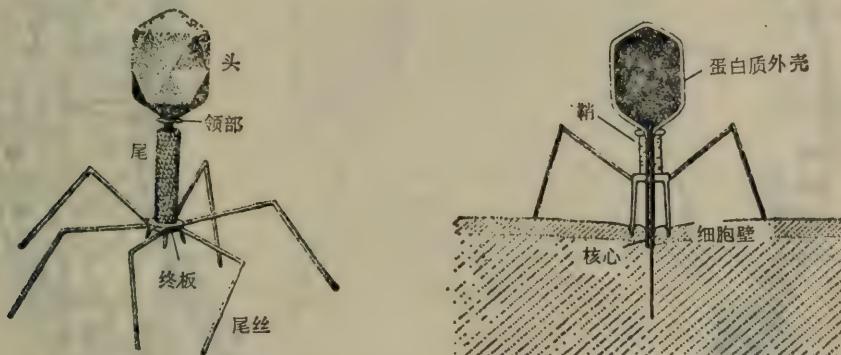


图 36-7 噬菌体 T4 的结构。头部为 30 面体,尾中空,由一收缩性鞘包围。六根尾丝附着于终板,终板上有六根短刺。(引自 W. B. Wood and R. S. Edgar, "Building a Bacterial Virus", 1967)

已经观察到许多 T4 噬菌体的突变型。其中某些突变型生物合成有缺陷的病毒蛋白是由于置换了氨基酸。另一些突变型合成一些有缺陷的辅助酶,如病毒脱氧核糖核酸酶或病毒溶菌酶,前者能破坏寄主细胞的-DNA,后者可能破坏寄主细胞壁。当发生突变因而病毒结构的蛋白质组分出现缺陷时,子代病毒颗粒的装配常常停止在有缺陷的蛋白质分子被插入的那一阶段。大部分这种突变是致命的,因为突变型病毒不能复制或者不能进入寄主细胞。然而某些缺乏一种或另一种结构组分的 T4 突变型是条件致死突变型,就是说突变型的蛋白质可以表现为或是有功能的或有缺陷的形式,取决于培育和增长的条件,特别是温度的条件。在后一种情况,这些突变型称为温度敏感性突变型。当被感染的大肠杆菌细胞在容许条件下增长,例如在 25℃ 温度时,这些突变型病毒会形成完整的有功能的病毒颗粒,而在限制性条件下,即在 37—40℃ 的高温时,会形成有缺陷的病毒颗粒。

根据这些实验,Edgar 绘制出规定在寄主大肠杆菌细胞中的 T4 病毒各组成部分的生物合成的 T4 病毒的基因图谱,图 36-8 示 T4 的遗传图。T4 基因的半数以上参与整个病毒颗粒的形成,每个基因规定一种独特类型的蛋白质亚基。在有各种各样缺陷基因的突

变型中，通常井然有序的病毒形态发生过程即行中断。这一效应导致寄主细胞内堆积起一些不完整的断片，如头、尾或尾丝等，随突变位点而异。这些断片可借电子显微镜在带有突变型病毒的细胞中看到。用差离心法也可从含突变型的细胞的提取液中回收这些不完整的病毒断片。图 36-8 的方格中显示 T4 的各种突变中堆积起来的断片实质。

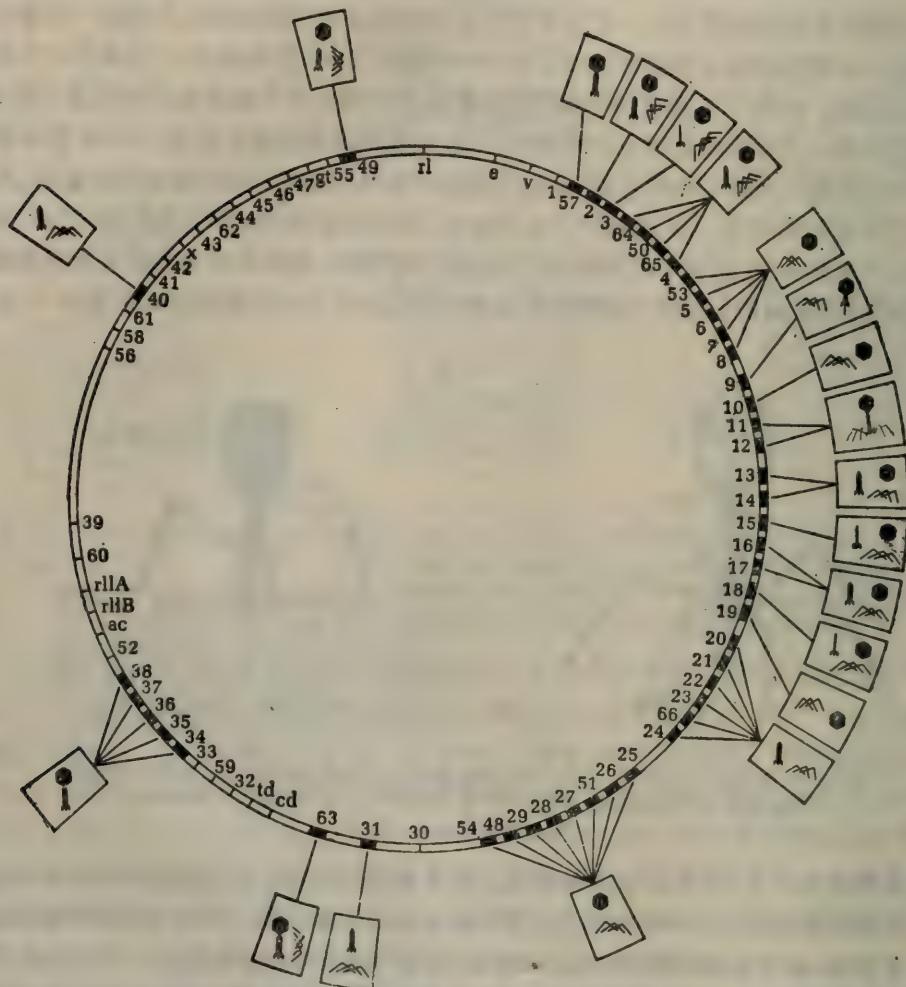
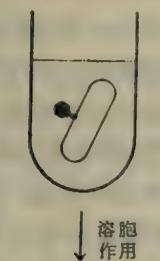


图 36-8 噬菌体 T4 的遗传图, 示规定噬菌体结构及装配(黑色节段)的一些基因位置。方格中示宿主细胞对所示位点突变的反应而产生的断片的性质。当基因 11 或 12 发生突变时, 便形成一个完整的但异常脆弱的病毒颗粒。

Wood 和 Edgar 用 40 种不同的, 每种能引起不完整病毒集合的 T4 温度敏感突变型来感染大肠杆菌, 再分别制备大肠杆菌细胞培养物的提取液。逐一试验时没有一份提取液对大肠杆菌有感染性。然而将这些提取液配对混合时, 他们发现某些对产生有活性的病毒颗粒, 而另一些则否。例如, 发现缺乏尾丝的 34、35、37 或 38 基因突变型的提取液中的不完整病毒颗粒能与不能形成头部的基因 23 的突变型提取液中的尾丝结合, 只要将提取液混和, 继之于 30℃ 保温头尾的结合就发生了, 形成了完整的有感染性的 T4 颗粒, 病毒颗粒数随着保温的时间而增多。用电子显微镜检查经过培育的混合液, 证明确实形成了新的完整的 T4 病毒颗粒(图 36-9)。如果先自提取液中分离头、尾, 再放在一起保温, 也

能发生这种重新结合过程。头尾结合成完整的病毒颗粒不需要酶，因此是一种自身装配过程。这样一些实验，其中一种突变型的基因产物能与另一突变型的基因产物互补，称为互补试验。

基因 34, 35, 37, 38
有缺陷的突变型



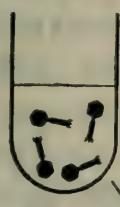
基因 23 有缺
陷的突变型



溶胞作用



溶胞作用



提纯



混合部分



保温



有活性
的病毒

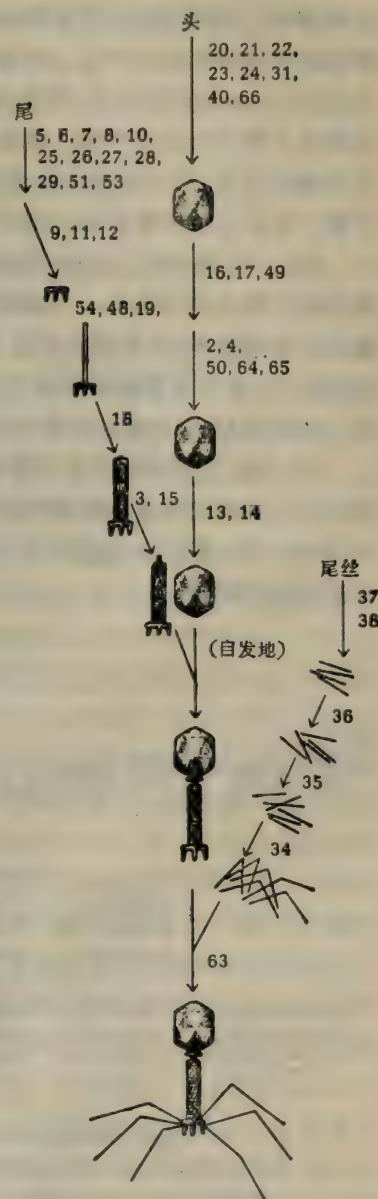


图 36-9 噬菌体 T4 在体外的重新组成, 将缺乏尾丝的突变型病毒颗粒与感染了缺乏头部结构的病毒的细胞提取液混和而得。(引自 W. B. Wood and R. S. Edgar, "Building a Bacterial Virus", 1967)

图 36-10 三个独立的装配过程, 分别形成头、尾及尾丝, 然后按图中所示的顺序结合, 形成完整的颗粒。

根据许多这样的互补试验，各种 T4 突变型可分成 13 组。任何一组的一种突变型不能与同组的另一个互补，但能与任何其它组的突变型互补。进一步分析这些组中的突变型，就可确立装配反应的顺序以及各个基因负责的关键步骤。图 36—10 显示了这些结果。第一个结论是完整的有感染性的 T4 颗粒，由完整的头、完整的尾和完整的尾丝结合而成，而各个部分则是事前在不同的装配线上分别形成的。装配过程按专一的顺序进行，因为病毒颗粒并不能从头端开始再以尾丝末端结束的方式形成。

形成完整的头部至少有 16 个基因参与，可能每个基因给一种专一型的结构蛋白质的合成编码。尾的装配从形成终板开始，此过程至少需要 15 个基因参加。在终板上形成完整的尾还需要另外四个以上的基因产物。然后头与完整的尾自发地互相结合，不需要酶促反应。一旦它们结合后，在尾丝附着以前，还需另一个基因产物，即基因 9 的产物。尾丝装配总共要五个基因产物。然而全部尾丝必须在它能附着于终板之前形成。后一步骤具有特殊的意义，因为它的发生看来是使两个结构蛋白融合的一种酶促反应。这是 T4 颗粒整个装配过程中需要催化剂的唯一步骤，所有其他步骤似乎都是自发的非酶促过程。

另一个非常有意义的发现是在三条装配线中每一条都需要一定的装配顺序，例如尾的装配不能从中间开始。装配的专性的顺序提示每当增加一个亚基并与前一个结合时，就发生构型改变，使其更易接受下一个亚基的结合，等等。于是在一系列连续而协作的相互作用中，每一步骤都能促使下一步的发生，所以整个结构只能按一种专一的顺序完成。这一结论同对 ATC 酶和烟草花叶病毒的装配的一些观察完全一致。

T4 装配过程中的许多重要细节正由其他研究组在补充，尤其是 J. King 的工作，他确定了一些指定尾蛋白的基因的特性，解决了这些蛋白质的分子量和它们的装配顺序(图 36-11)。另一些研究者也确定了这些蛋白质中某几种的功能。例如有一种尾板蛋白就是二氢叶酸还原酶。

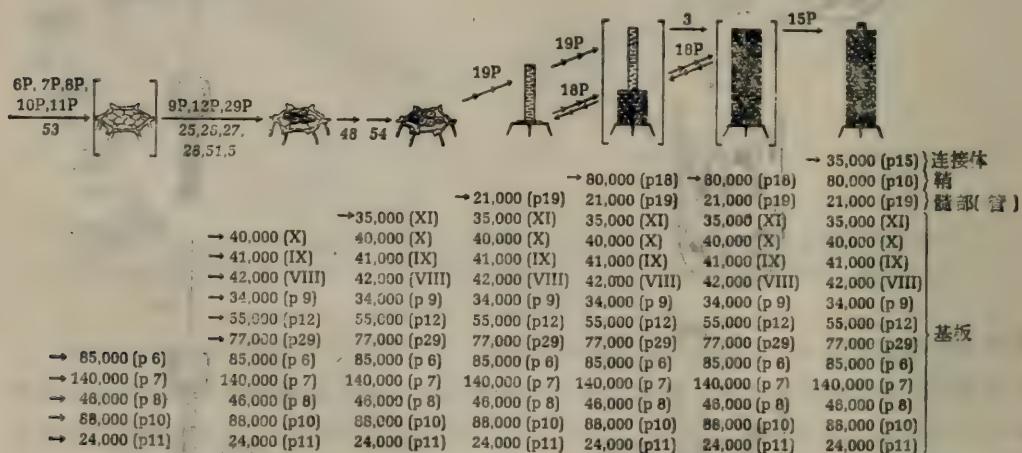


图 36-11 噬菌体 T4 尾部的结构和装配。在装配流程图中箭头上方所列的基因规定那些已经确定的蛋白质，箭头下方的基因规定迄今还未检定的一些蛋白质。每种结构下方一行列举该结构所含多肽的近似分子量，每个多肽根据基因来编号，而多肽本身是该基因的一种产物。小箭头表明新增加的多肽。

从解决烟草花叶病毒粒子和 T4 病毒粒子的自身装配以及形态发生成功事例中得

到了鼓舞，许多研究者已经在对付另一些病毒，例如 RNA 病毒 Q β 和 DNA 病毒 T7。从这些研究中发现了另一些形态发生的重要原理。其中之一来自对鼠伤寒沙门氏菌的噬菌体 P22 装配的研究。King 和他的同事们已经发现病毒头部的构成按下列方式进行：420 个相同的外壳蛋白亚基以正确的三维空间构型装配成病毒的头，装配过程需要另一种称为“搭架蛋白”的蛋白质的帮助。在成熟的病毒颗粒中并没有这种蛋白质，但它形成一种壳样的架子以帮助头部亚基的正确装配，然后架子就脱落。在每个被感染的细菌细胞中搭架蛋白大概有 250 个拷贝，装配 P22 病毒粒子时被反复使用。

在这些一组组有趣的实验中，我们能够看到更复杂一级的三维空间结构如何从一维信息发生，后者编排成蛋白质亚基的氨基酸顺序。这个顺序给每一亚基的构型编码，而且还看到每个亚基如何配合下一个亚基，以及如何只能按一种专一的顺序依次装配。

核糖体的自身装配

核糖体的结构极其复杂。大肠杆菌的 70S 核糖体的粒子量约二百七十万，含有大概 65% 的 RNA 和 35% 的蛋白质。小的 30S 亚基含有一个分子的 16S RNA 和 21 个不同的亚基，这些亚基在每个核糖体内的复本最多不超过一个。50S 亚基含有 5S RNA 和 23S RNA，同大约 34 种不同蛋白质在一起。而且，核糖体的生物学功能极其复杂，须包括 mRNA 的识别和结合，专一性氨酰基-tRNA 的结合，肽键的形成，还包括核糖体通过依赖于 GTP 的机械化学过程沿着 mRNA 进行物理性移位。所以把核糖体的全部组分分离，得到纯品，并研究它们重行装配成能够合成一多肽链的有功能的核糖体，这一切看来是一件非常困难的工作。不过在许多实验室中已经作出很有意义的进展，Wisconsin 大学的 N. Nomura 和他的同事们首创了这一科研项目，并描述了核糖体自身装配的许多特点。这些研究的一个重要成果是识别了自身装配过程中的专性的顺序及其合作本性。

这些研究者从发现下列事实开始，即核糖体 30S 亚基经高浓度盐溶液处理，继之以氯化铯密度梯度离心，引起七种独特的核糖体蛋白质变为可溶性而分离，只留下一个由 RNA 和蛋白质组成的 23S “核心”。这样的核糖体核心在蛋白质合成中是没有活性的。五个脱落的蛋白质已经分离并提纯到均一；另二个以混合物形式获得。五种纯化蛋白质的氨基酸成分不同。为了确定是否能重新组成有机能活性的核糖体，将 23S 核心和全部溶解的蛋白质混合。然后加入完整的 50S 核糖体亚基，检查加在一起的混合物，看看供给像多聚尿嘧啶核苷那样的合成信使、标记氨基酸、ATP、GTP、tRNA 以及氨基酸-激活酶时有无合成多肽的能力。发现了这种重组的核糖体系统在多肽合成中有活性。但如果五个纯化的蛋白质随便省掉一个，这样重组的产物在蛋白质合成中的活性就明显降低或完全丧失。这些观察指出部分分离的核糖体可以重组，而且还指出了试图完全重组 30S 亚基是可行的。

Nomura 还有 C. G. Kurland 和它的同事们，在分离大肠杆菌细胞核糖体 30S 亚基内所发现的全部 21 种蛋白质中已经获得成功，并且得到了纯粹的 21 种蛋白质（表 36-1）。这些蛋白质的分子量、氨基酸成分以及可能的功能现在也已知道。他们在免疫学上都是独特的。另外，30S 亚基中每种蛋白质的复本数也已经确定。每个 30S 颗粒中并没有发生过一个以上的复本数，有少数蛋白质在给定群体的全部核糖体中似乎也并不都存在，30S

亚基的 16S RNA 也已经从去垢剂处理的核糖体中用酚提取而得到纯的形式。

表 36-1 根据 SDS 凝胶电泳确定的大肠杆菌核糖体中 30S 亚基中的蛋白质
群体中的核糖体并不是全部都有 21 种蛋白质中每一种的一份复本



图 36-12 细菌核糖体 30S 亚基中天然蛋白质(左)和重新组成蛋白质(右)的凝胶电泳

Nomura 和他的同事们把 16S RNA 和 21 种不同的提纯的核糖体蛋白质混合, 在冷环境中保温, 接着将混合物同完

蛋白 质	分 子 量
S 1	65.000
S 2	28.300
S 3	28.200
S 4	26.700
S 5	19.600
S 6	15.600
S 7	22.700
S 8	15.500
S 9	16.200
S 10	12.400
S 11	15.500
S 12	17.200
S 13	14.900
S 14	14.000
S 15	12.500
S 16	11.700
S 17	10.900
S 18	12.200
S 19	13.100
S 20	12.000
S 21	12.200

整的 50S 亚基结合后, 测试此系统进行多肽合成的能力。没有见到活性。但将 16S RNA 和 21 种核糖体蛋白质的混合物在高浓度 KCl 液中在 40℃ 保温 10 分钟后, 它们就很易重新装配成 30S 亚基。只要反应在 40℃ 进行, 蛋白质加入的次序随便。重组的 30S 亚基含有同天然 30S 亚基一样的蛋白质(图 36-12), 这表明恰当的核糖体蛋白质本身准确地进行了装配。重组的核糖体发现能够合成标记的多聚苯丙氨酸, 其速率大约是正常核糖体速率的一半。

Nomura 和他的同事们也发现从大肠杆菌分离的 30S 核糖体蛋白质可以与从棕色固氮菌 (*Azobacter vinelandii*)、黄色微球菌 (*Micrococcus luteus*) 和嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*) 中分离出的 16S rRNA 混合, 重新组成 30S 核糖体杂种, 还发现这些杂种在蛋白质生物合成中有活性。反之, 当大肠杆菌的 16S RNA 与另二种细菌的 30S 核糖体蛋白质混和时, 也产生有生物活性的杂种。另一方面, 当二个不同种属的完整 30S 核糖体混合时, 并不发生部分的交换。

然后 Nomura 和他的同事们开始确定 21 种蛋白质和 16S RNA 装配次序的工作。最初他们查明了那一种核糖体蛋白和 RNA 进行专一地结合。有三种蛋白质(S4, S8 和 S16)的结合牢固, 另外四种(S7, S13, S17, S20)的结合微弱, 其余的没有一种和 RNA 结合(图 36-13), 然后他们试验剩下的蛋白质与 16S RNA 和三种结合牢固的蛋白质 S4, S8 和 S15 所形成的复合物的结合能力。发现另外三种比其余的蛋白质结合得更牢固。接着进

一步试验其余蛋白质与 16S RNA 和六种结合蛋白质形成的复合物的结合顺序。根据一长串的这种试验, S. Mizushima 和 Nomura 的结论是 30S 核糖体亚基的自身装配有专一的顺序, 组分的加入是协作的, 就是说一种组分的加入加强了下一种的加入。图 36-13 是 30S 亚基的装配图, 图中显示了将近 21 种蛋白质的加入顺序。30S 和 50S 亚基的真正的三维空间结构是用免疫学和电子显微镜方法确定而绘出的, 而且已经检查了各种不同亚基的专一性功能。(表 36-2)

Nomura 和其他工作者已进展到将 50S 亚基分解成为它的组成部分。50S 亚基含 34 种不同的蛋白质和两种 RNA(5S 和 23S), 全部已经纯化。50S 亚基的蛋白质, 除了二种以外, 彼此都不同, 和 30S 亚基的蛋白质也不同。嗜热脂肪芽孢杆菌核糖体的 50S 亚基的完全自身装配已在体外试验中取得成功。比 30S 亚基的自身装配过程要慢些, 且需提高温度。50S 亚基重组后与天然的 30S 亚基混合, 在蛋白质合成中观察到有充分的活性。而且看来还带有专一的顺序和装配的协作性。

表 36-2 细菌 30S 核糖体亚基的某些蛋白质的功能

功 能	蛋白 质
结合 mRNA	S1,
结合 fMet-tRNA	S2,S3,S10,S14,S19,S21
识别密码子	S3,S4,S5,S11,S12
A 和 P 位点的功能	S1,S2,S3,S10,S14,S19,S20,S21
氨基 tRNA 的结合	S9,S11,S13
靠近 GTP 酶的中心	S2,S5,S9,S11

有关核糖体自身装配的分子细节目前正在考察。因为已经知道 5S 和 16S rRNA 的碱基顺序以及 23S rRNA 的部分顺序, 就能确定不同的核糖体蛋白质在 RNA 上的专一结合位点。再有, 对各种核糖体蛋白质的详细研究已经发现了它们中某些蛋白质的功能,(表 36-2)。已经发现 50S 亚基的一种蛋白质对移位步骤负责。这种蛋白质涉及 GTP 的水解和伴随的移位。它含有罕见的氨基酸 ϵ -N-甲基赖氨酸, 而这种氨基酸是肌肉的肌动蛋白和鞭毛蛋白的特征。有一观察提示这些蛋白质有机械化学的功能, 可能也有分子结构的某些共同特点。

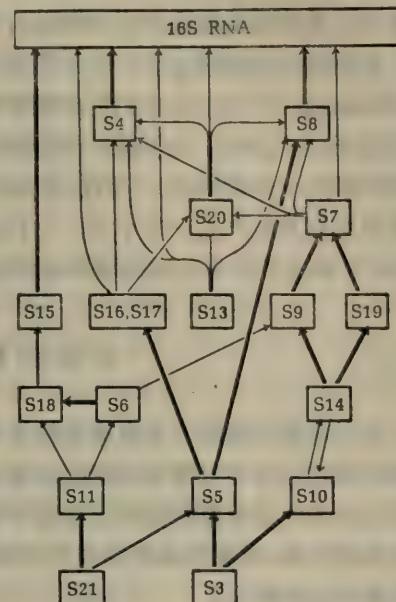


图 36-13 细菌 70S 核糖体的 30S 亚基的装配图, 显示 21 种蛋白质(编号 S1 到 S21, S 代表小的核糖体亚基)装配的主要途径。16S 亚基提供构架。箭头的粗细和每一步的概率成比例; 箭的头部示结合方向。这样, S4 和 S6 蛋白与 16S RNA 结合最牢固, 其次为 S15。而 S7 和 S20 结合得稍弱。S7 也和 S4 和 S8 结合。S3 和 S21 蛋白质在最后结合。[引自 M. Nomura, *Science* 179: 869 (1973)]

其它自身装配过程: 膜系统

除了上述的一些例子以外, 已经研究了许多其他的自身装配过程。其中如从微管蛋白亚基装配微管, 从单体鞭毛蛋白亚基装配细菌鞭毛, 骨骼肌细丝和粗丝的部分装配, 谷氨酰胺脱氢酶自身联合成丝状和管状结构, 脂肪酸合成酶和丙酮酸脱氢酶复合物的装配。

某些膜系统可自发地从它们的组分装配自己。我们已经知道极性的磷酸甘油酯在没有蛋白质的条件下可自发地形成双分子层。这种装配过程的推动力仍然是周围水相环境寻求其最大熵值状态的倾向，就迫使类脂质分子使他们自己排列成尽可能减少它们的烃链与水的接触的地步。因为这种自身装配的双分子层有大致相同的厚度并具有天然膜的许多特性，如电阻和电容高、对水的渗透性高、对电介质的渗透性低，故它们被假定作为天然膜的“核心”。已经发现各种蛋白质可附着于这种人造的类脂质双分子层系统上，而这种双层系统经常被用作产生和膜结合的酶系统以及转运系统的体外重组。

和膜结合的酶或酶复合物在某些情况下可以脱落、纯化和重新附着于空虚的膜上。例如 E. Racker 和他的同事们已经把氧化磷酸化过程中的 F_1 酶或合成 ATP 的酶从线粒体膜上分开并已提纯。又可以一种特殊的方式将 F_1 ATP 酶加回到空虚的线粒体膜小泡上，使氧化磷酸化作用恢复。最近，肌浆网内的 Ca^{++} 转运 ATP 酶已可从高度纯化的蛋白组分和类脂质重组产生一些小泡，它们能使 ATP 水解而用于将 Ca^{++} 运过膜。同样 $Na^+ \cdot K^+$ -ATP 酶也已经从提纯的组分重组起来。

更高级别结构的形态发生

自身装配过程能否解释像线粒体和叶绿体等更复杂结构的形态发生呢？在整个真核细胞的形态发生中自身装配真的能起作用吗？原则上，并没有什么先验的理由可以认为细胞内许多井然有序的结构为什么不能通过自身装配过程而形成，因为其中大多数看来都是由蛋白质、类脂和核酸的非共价键结合的亚基所组成的，而且至少有一些组分还显示出自身装配的特征。

线粒体形态发生的分子观点目前正受到仔细的研究。由于酵母细胞是兼性的，如果它们的线粒体有缺陷时可以只依靠发酵而很好地生存，因此可以在酵母细胞的突变型，即缺乏一种或另一种专一的线粒体蛋白的突变型中研究某些线粒体组分的生物合成和装配。现已分离出一些线粒体突变型，其中缺乏多种专一蛋白质，如细胞色素 c, F_1 ATP 酶或细胞色素氧化酶。例如：只要将细胞色素 c 与缺乏此种蛋白质的突变型中分离出的线粒体混合，就使细胞色素 c 结合到线粒体上因遗传缺陷而留下的空位点上去，并恢复电子传递和氧化磷酸化。关于叶绿体形态发生的重要实验也正在进行。

有些证据表明，某些大的超分子结构或许不完全是自身装配的，只有通过把一些专一的基本单位增加到某种已形成的作为模板的结构中去的过程才能使他们自己绵延下去。例如某些草履虫的食管可以从细胞质提供的小分子部分构成。然而食管的装配并不是从头开始；必须存在某种已形成的食管结构。如果一部分额外的食管被移植至正常只有一条食管的草履虫中去，此时就会长出第二条完整的食管。于是这样一种草履虫的全部后代都会有二条食管，不管他们的遗传型如何。因此草履虫具有形成食管形态发生所需的基本单位的遗传能力，但通常只产生一条食管，显然是从某些已形成的生长点开始的；后者作为增加更多的亚基的模板。

真核细胞的形态发生，和一些特殊组织与器官（如肌肉、肾脏和脑、或者植物的叶和花）的形成，所有这一切的分子及遗传基础对未来的生物化学及遗传学提出了许多引人注意的问题。

摘要

大多数巨大的大分子和超分子生物结构—调节酶，酶复合物，脂蛋白，核糖体，病毒和膜—包含着若干个或许多个多肽亚基，通过疏水性相互作用和氢键非共价地连结起来。这种结构方式有许多生物学优点，它把蛋白质合成中的误差效应减低到极小，允许排除有缺陷的亚基，节约使用了编码用的 DNA，并允许发生亚基之间非常迅速的相互作用。超分子系统大部分通过亚基之间的疏水性相互作用而得到稳定，这是周围的水寻求最大熵值状态倾向的结果。亚基相互作用的专一性依靠氢键和离子键得以成功。低聚蛋白质和蛋白质复合物自身装配所需的讯息本来就存在于多肽亚基的氨基酸顺序中。自身装配系统通常在装配过程中显示专一的步骤顺序。它们也表现出合作性，因此增加一个亚基就加强了下一个亚基的加入。

门冬氨酸转氨甲酰酶有专一的装配顺序，开始形成催化亚基，每个亚基由三个相同的多肽链构成。调节亚基在一独立过程中形成，每个由二个相同的多肽链构成。含有二个催化性和三个调节性亚基的最终活性产物可以经不同的途径进行装配，取决于这两类亚基的浓度。烟草花叶病毒是一长柱形分子，含有一条 RNA 长链和 2,200 个相同的蛋白质亚基。这种病毒由每个含 34 个蛋白质亚基的圆形平盘装配起来。装配过程的起始开始于 RNA 和第一个平盘的结合。然后相继加上平盘，随着 RNA 分子卷绕在中央的核心时，每个平盘转变成一种汽塞垫圈样构型，一直到装配成完整的病毒颗粒为止。

大肠杆菌的噬菌体 T4 从大量的不同蛋白质和 DNA 进行自身装配。头、尾和尾丝是分别形成的，每个都有专一的顺序，然后装配成一完整的病毒粒子。除了惟一步酶促反应之外，其他一切步骤都是非共价的。

细菌核糖体的 30S 和 50S 亚基在适当条件下也进行自身装配。将 16S RNA 和 21 种不同的蛋白质亚基混合加温就形成 30S 亚基。当和天然的 50S 亚基结合时，形成的 70S 核糖体有合成蛋白质的活性。蛋白质亚基的装配有一种专一顺序。50S 亚基已经通过 5S RNA、23S RNA 和 34 种不同的蛋白质亚基的自身装配而重组起来。

已经发现了微管、鞭毛、肌动球蛋白以及各种多酶复合物显示出自身装配活动，某些和膜结合的运输系统也一样。

参考文献

书籍

- Fraenkel-Conrat, H.: *Design and Function at the Threshold of Life: The Viruses*, Academic, New York, 1962. Early experiments on the self-assembly of tobacco mosaic virus are described.
- Nomura, M., A. Tissières, and P. Lengyel (eds.): *Ribosomes*, Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, N. Y., 1974. An up-to-date compendium of reviews on all aspects of ribosome structure and function.
- Thompson, D'Arcy: *On Growth and Form*, abridged edition, J. T. Bonner (ed.), Cambridge University Press, London, 1961. A classic analysis of biological form at the macroscopic level.
- Wolstenholme, G. E. W. (ed.): *Principles of Biomolecular Organization*, Ciba Foundation Symposium, Little, Brown, Boston, 1966. An interesting discussion of the molecular design of biostructures.

论文

- Bothwell, M., and H. K. Schachman: "Pathways of Assembly of Aspartate Transcarbamoylase from

- Catalytic and Regulatory Subunits," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.)*, 71: 3221—3225 (1974).
- King, J., and S. Casjens: "Catalytic Head-Assembling Protein in Virus Morphogenesis," *Nature*, 251: 112—119 (1974).
- King, J., and U. K. Laemmli: "Bacteriophage T4 Tail Assembly: Structural Proteins and Their Genetic Identification," *J. Mol. Biol.*, 75: 315—337 (1973).
- King, J., and N. Mykolajewycz: "Bacteriophage T4 Tail Assembly: Proteins of the Sheath, Core, and Baseplate," *J. Mol. Biol.*, 75: 339—358 (1973).
- Kurland, C. G.: "Ribosome Structure and Function Emergent," *Science* 169: 1171—1177 (1970).
- Mizushima, S., and M. Nomura: "Assembly Mapping of 30 S Ribosomal Proteins of *E. coli*," *Nature*, 226: 1214—1218 (1970).
- Nomura, M.: "Assembly of Bacterial Ribosomes," *Science*, 179: 864—873 (1973).
- Pongs, O., K. H. Nierhaus, V. A. Erdmann, and H. G. Wittmann: "Active Sites in *E. coli* Ribosomes," *FEBS Lett.*, 40: 528—535 (1974).
- Spirin, A. S.: "Structural Transformations of Ribosomes (Dissociation, Unfolding, and Assembly)," *FEBS Lett.*, 40: S38-S47 (1974).
- Stöffler, G., L. Daya, K. H. Rak, and R. A. Garrett: "The Number of Specific Binding Sites on 16S and 23S RNA of *E. coli*," *J. Mol. Biol.*, 62: 411—414 (1971).
- Stöffler, G., and H. G. Wittmann: "Immunological Studies of *E. coli* Ribosomal Proteins," *J. Mol. Biol.*, 62: 407—409 (1971).
- Studier, F. W.: "Bacteriophage T7," *Science*, 176: 367—376 (1972). An analysis of the gene products and assembly of a small DNA virus.
- Weiss, P.: "1+1 ≠ 2 (One Plus One Does NotEqualTwo)," p. 801 in *The Neurosciences: A Study Program*, Rockefeller University Press, New York, 1967. An absorbing essay on biological form and its molecular basis.
- Wood, W. B., and R. S. EdGar: "Building a Bacterial Virus," *Sci. Am.*, 217: 61—74 (1967). An account of the early experiments on self-assembly of bacteriophage T4.
- Wood, W. B., R. S. Eogar, J. King, I. Lielausis and M. Henninger: "Bacteriophage Assembly," *Fed. Proc.*, 27: 1160—1166 (1968).

[姚开泰译 任邦哲校]

第三十七章 生命起源

在泛论生物化学中，我们曾多次接触到一套组织原理，我们把这套组织原理叫做生活物质的分子逻辑学。从自然科学家观点看来，可以把细胞看成是有机分子的复杂集合体，能自行组织、自行复制，能通过连续的酶促有机反应同其周围环境交换能量和物质，而且看来也能在其各部分和各个过程最大限度节约的基础上执行其功能。我们已经鉴定了细胞的许多分子组分，也看到了它们如何获得和利用能量，如何复制自己。现在转到以下的根本性问题：生物分子是怎样发生的？有机生物分子如何“学会”互相作用并把自己组织起来？最初的细胞或最初的“活”结构是如何从有机分子中发生的？最初的细胞又是如何进化成现在知道的形形色色的活的形式的生物的？

不久以前，还把生命起源的研究看成是纯粹空谈和猜想，没有希望得到确凿的知识。但是，近二十年来许多科学进展都支持下一见解：即对上述某些根本性问题可以推断出正确的答案，至少生物分子和活细胞起源中的某些步骤是可以在实验室里模拟的。在这最后一章中将概述这个日益活跃的领域中的某些实验以及思路的方向。尽管这一课题一定总会带些臆想，但是它的研究可能有朝一日会洞察分子生物学的奥秘，对于生活物质的分子逻辑学的根本法则，展现出一幅比现在所有的更加清晰的图画。

化学进化与生物进化的年代表

为了明确起见，我们首先概要地叙述一下地球的地质史和生物史（图 37-1）。据信，地球大概在 48 亿 (4.8×10^9) 年前由气体尘埃的云雾凝结而成。这些尘埃大都含有放射性元素，它们在地球内部进行衰变，产生了大量热能和火山活动，使地球表面温度比现在的大概要高一些。原始大气一部分来自地球内部，关于原始大气的成分问题，议论纷纷，尚无定论。最早期的大气大概含大量氮，还原作用强（富于氢、甲烷、氨和水），不过氢不久便消失了，而象一氧化碳之类氧化较多的组分则随着时间的流逝而越来越浓。很可能在生命起源时的大气仍然有很大的还原作用而没有氧气存在。氧主要是光合作用的产物，是很晚才出现的。

现在有许多证据提示，在地球历史的初期，有机化合物首先是在紫外线、放电、热以及其他形式的能量的激活作用下，由大气和地圈里各种无机成份之间的反应产生的（参见第一章）。这些有机化合物在原始海洋里逐渐积累。这个早期叫做化学进化时期，历时约 15 亿年，将近地球史的三分之一。在此期内，首先发生了大约 30 或 40 种原始生物分子，还发生了很多其他有机化合物。据信，在这个时期的晚期，这些原始基本单位经受了非生物缩合作用，形成了原始的多肽、多核苷酸、多糖和脂类。据信从这些有机分子和聚合物的丰富羹汤也就是原始有机“汤”里发生了最初的活机体。这就是本世纪 20 年代苏联 A. I. Oparin 和英国 J. B. S. Haldane 提出的一连串事件。

人们所知道的最古老的有机物质，是在南非、非格特里（Fig Tree）页岩沉积物里找到

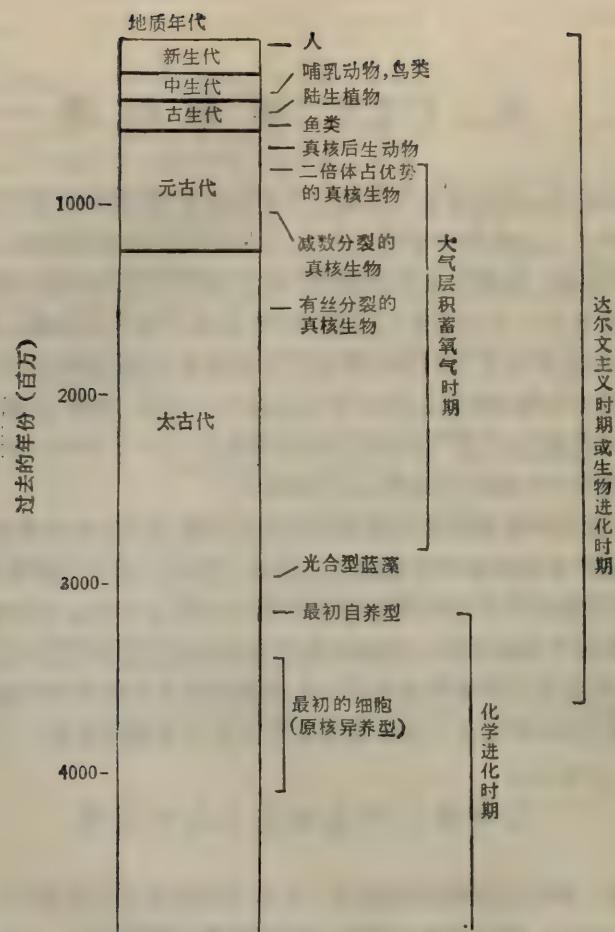


图 37-1 化学进化与生物进化年代表。高等形式的生命进化时间虽能相当准确地测定，但表中低等生物起源时间却只能大概估计。

的，其中含有许多烃类，有些具有类异戊二烯性质，还含有卟啉类、嘌呤类和嘧啶类。同位素年代测定法表明这些页岩至少是在 31 亿年前沉积下来的。近来研究非格特里类异戊二烯化合物的结构，表明其中有一些化合物同现代细胞里的化合物相关连。如果它们来源于生物，那么，生命起源便会比 31 亿年前更早。在电子显微镜下发现非格特里沉积物中的微型化石具有细胞状结构，直径约 0.6 微米，极象现代的细菌。这一发现从另一方面支持上述见解。

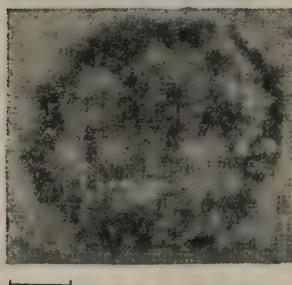


图 37-2 从前寒武纪早期南非采集的藻样化石。[引自 J. W. Schopf and E. Barghoorn, *Science* 156: 508—512 (1967)]

胞。最初，它们大概还不能放氧，可能还象今天的紫硫细菌一样用硫化氢代替水作为氢的供体。以后才发生了最初的生氧光合细胞，即现代蓝藻类的祖先。在它们出现之前，大气里大概含很少的游离氧或者没有游离氧。最初，利用氧的需氧性异养体发生得很晚，因为由于光合作用的结果大气中氧水平的建立是很缓慢的。大约在 6 亿到 10 亿年前，大气中氧的浓度才达到 1% 的水平，大约到 4 亿年前，才达到 10% 的水平。因此，大气中最初出现氧以后，还需要过 10 亿年之久才出现需氧性脊椎动物和有维管束的高等植物。人类的出现只不过是最后二百万年的事情，在地球的历史中，相当于一天 24 小时中最后的 30 秒钟而已。

若干工作假设

从数学和哲学上考虑，不能设想，由于许多有机基本单位分子当中一次偶然的物质接触，奇迹般地结合而发展成象现在的细胞那样的一个完美细胞，于是便产生了生命。更可能的是，最初的“细胞”或“活”结构比今天的细菌更为简单，它们的发生是一长串单独事件的结果，因此，它们进化中的每一阶段都是从前一阶段通过一种很小的变化而发展起来的。由此又推想到，在导致最初细胞系生存的进化中，至少在一个漫长的时间内，每一步必定有一个合理的高的发生机率。

这项假设有一个重要结论。在生物出现前的进化里，相继发生的各个步骤应是充分可能的，按照化学和物理学规律在实验室里、在一个合理的时期内都是可以观察到的。果真如此，那末，导致生命起源的早期事件中，至少有一些是能够用实验方法进行研究的。

还可以作出另一些工作假设。在向着生命发生的化学进化过程里，可假设三个时期。在第一时期里，某些类型的有机分子因为容易形成而且高度稳定，因而能在原始海洋里开始积累起来。到了化学进化第二时期就是那样一个时期，在此期内一种专一组合的有机分子以集合成群或称为复合物的形式要比单独存在时生存得更好。姑不论这第一群“学会”共同生存的有机分子的性质如何，这个有机分子群其所以发生很可能是因为它比其前体分子在热力学上说来更为稳定。换句话说，化学进化中每个相继步骤得以发生，看来是因为这个体系和其水溶液环境增加了熵的缘故。这样，化学进化曾经有过一种推动力，这在最根本的意义上来说，它一定曾经促成过宇宙熵最大限度地增加。在探索极大熵的位置时，各种分子群可能尝试过各种不同的“途径”来越过活化-能量障碍，直到找到了最低、最可能的途径。像这样化学进化可能采取了一条专一的途径，能够反复通过这个途径，制造出同一系列的起始化合物。

在化学进化的第三时期里，某些比较复杂的有机分子群可能获得了诸如催化活性，或能抵抗环境变化，或能改变环境的一种“功能”，然后“学会”通过形成某种原始分子模板而复制自己。在化学进化的这个时期，最难理解，因为自行组织并自行复制的分子体系的现代非生物原型即使有也是极其罕见的。只是到近来才援用很特殊的热力学和动力学条件，试图建立物质自行组织的理论。

最后，也可以设想，细胞或活结构可能是在不同的地点或时间内从无生命物质，可能是从不同种类的有机基本单位里经过几次甚至多次发生出来的。不过，这一点看来是确定的，即仅仅只有一个细胞系生存下来，从它衍生出今日地球上的全部有机体。根据物种

进化的研究,估计在曾经生存过的全部有机体物种当中,99% 现在已经绝种,没有留下活的后代。由此类推,在生命出现前的进化中大概也遭受过强大的选择压力,以致在第一个稳定的活细胞系的起源里可能有过一些错误的起点。

导致有机化合物非生物起源的条件

第一章已经提到,在模拟的原始地球条件下,实验室试验怎样通过各种形式能量的激活作用,从可能存在于原始环境里的无机物前身,产生氨基酸、嘌呤、嘧啶、糖以及许多其它有机化合物。在还原性气体混合物里最容易发生氨基酸和其他含氮有机化合物的形成,而在含氧的合成大气里却一般不能产生氨基酸。因此,在我们现在的大气里是不会产生这一类有机化合物的。

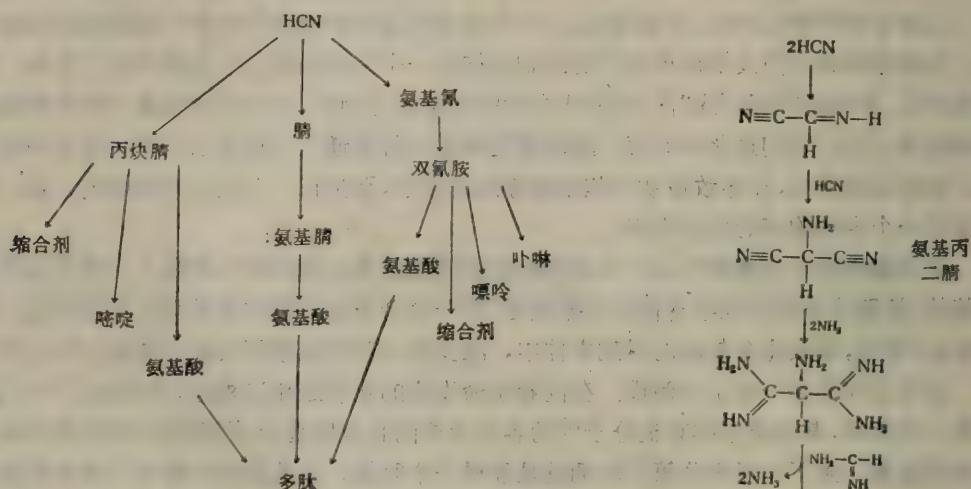


图 37-3 从 HCN 开始的生物分子的化学进化。从 HCN 的三种已知的中间产物(氨基氰、腈、乙炔腈)在模拟原始地球条件下形成许多不同的有机衍生物。

表 37-1 地球表面上的平均能源

来 源	能 量 卡 厘 米 ⁻² 年 ⁻¹
太阳辐射总量	260,000
紫外线	4,000
放电	4
冲击波	1.1
放射性	0.8
火山活动	0.13
宇宙辐射线	0.0015

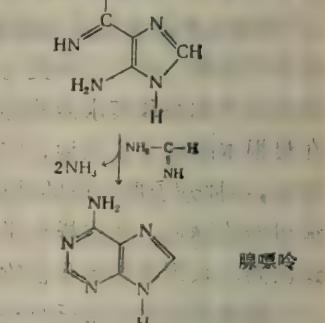


图 37-4 从 HCN 和 NH₃ 到腺嘌呤的可能途径

导致非生物形成简单有机氯化化合物的大多数反应途径,均以氰化氢为中心。氰化氢容易通过下列反应形成:



热能(来自火山)、紫外线(来自日照)、或放电(闪电)促进这些反应。在模拟的原始地球情

况下，氰化氢又转过来成为各种反应力强的化合物象丙炔腈、氨基氰、腈之类的前体(图 37-3)。这些化合物接着又作为各种不同的氨基酸、嘌呤和嘧啶的前体。确实，把单纯氰化氢和氨的混合物加热便能产生许多种普通氨基酸和极大量的腺嘌呤(图 37-4)。事实上，日本已把这个反应发展成合成腺嘌呤的商业方法。甲醛也容易在模拟的原始地球实验中形成。甲醛和石灰石(碳酸钙)加热，产生各种糖类。丙炔腈是一种重要的缩合剂，参见下条。

我们已经看到，原始地球上可利用的几种能源(表 37-1)可激活原始大气里的各种组份，通过上面所描述的化学途径，足以产生有机分子。紫外线和闪电放电很可能充当过主要的能源。在促进简单有机化合物的无生源性形成里，热能也是非常有效的；在原始地球上火山活动的附近地带可能有过足够高的温度。象闪电后的雷鸣爆裂以及陨石冲击所产生的冲击波在激活化学反应上特别有效。

在大多数模拟原始地球的实验里，都把反应体系加热到远远超过原始地球当时所存在的温度。理由自然是加速反应的速率，以便足以在几天或几星期的时间内产生可以看得见的产物。在水溶液体系里，多数化学反应的温度系数大约相同，所以由热能引起反应，看来是不可能的，这在较低温度下，不论多么缓慢，都是不会发生的。

作为上述各种反应的结果，在原始地球上，给定的十亿年还原性或接近还原性大气的时间里，究竟形成了多少有机物质，对此所作的各种估计悬殊很大。有些计算提示，在原始海洋里有机化合物的最大可能浓度是在 $10^{-12} M$ 的范围内，不过较近的计算提示，如果冲击波的能量能被利用来激活化学反应的话，则原始海洋所含的溶解性有机化合物可能一度多达 10%。自然，可能只是在小池塘里而不是在大海里有机化合物才发生有效的浓缩。

有机化合物的地球外形成

有了适当的简单气体和能源可资利用时，不可避免地将产生有机化合物——这一命题由于地球外天体里发现了有机化合物而大大充实了。一方面证据是，进入地球上的碳质陨石含有微量氨基酸和其它有机化合物，虽然这是否由于在地球上的污染所致，曾有过不少争论。最好例子是仔细分析过的 Murchison 陨石，它于 1969 年坠落在澳大利亚的 Murchison 镇附近。收集了这个陨石的碎片，并经过了减低污染至最少限度的处理。两个实验室分别进行了实验，均发现陨石里含若干氨基酸，其中有些是地球上有机体内所不存在的，所以不可能由污染所引起。还有，这块陨石的氨基酸没有光学活性，是右旋和左旋的混合物。这个事实也表明陨石里的氨基酸不是污染的产物，因为地球土壤里的氨基酸都有光学活性的。在 Murchison 陨石里的有机化合物当中还找到单羧酸和二羧酸，包括丙二酸、琥珀酸和反丁烯二酸在内。约一个世纪前落在法国的 Orgueil 陨石，其中也找到过有机化合物。

近几年来，辐射频率光谱测定，证明在星际尘埃云里有水、氨、以及大量的小有机分子(表 37-2)。小有机分子中有氰化氢、甲醛和丙炔腈，我们已经知道这些都是更复杂的有机化合物的重要前体。

多年来，关于其它行星上有无生命可能，曾经有过不少的猜测；还创造了“地外生物学”这一名词来指地球之外的生物学。这已成为美国国家航空和宇宙航行局(NASA)的

一个重要目标来探索其他行星和月球上的生命迹象。虽然月球表面看来完全无水，但月球尘土里也有过微量氨基酸的记录。在太阳系行星当中，只有火星似乎具备适宜的表面条件支持一种以水为基础的生命。正在设计用装配着仪器的海盗号宇宙飞船在火星上着陆，以分析它表面的有机组成并测定在火星上是否生存着或曾经一度有过活机体。

表 37-2 在星际空间所测出的一些碳化合物

甲醛	甲醇	异氰化氢	甲亚胺
一氧化碳	甲酸	甲基乙炔	
氰化氢	甲酰胺	乙醛	
丙炔腈	乙腈	硫甲醛	

在许多不同条件下进行的模拟原始地球的实验里，在古老岩石和页岩里，在陨石以及星际空间中，都反复看到了最普通的基本单位生物分子的大部分。这些事实明显地提示，它们可能是化学进化中普遍而相当稳定的产物，是通过在能量学上有利的反应途径形成的。这样，我们现在知道的基本生物分子可能是不仅在地球上，而且在宇宙内具备适宜条件的任何地方的化学进化的必然产物。

现在拟概述原始地球模拟实验的结果，这些实验结果提示了最初原始大分子，特别是蛋白质、酶和核酸形成的可能途径。然后将考察它们如何集合在一起而产生最初的“活”结构。

生命出现前的缩合剂

原始基本单位分子经过无生源性合成作用一旦形成以后，在向生物分子体系进展的其化学进化中，下一步必定是形成共价键，把这些基本单位连接成象核苷酸、肽和脂类的更复杂的生物分子，然后再形成象多糖、多肽和多核苷酸之类的聚合物。不过这里碰到一个矛盾。这些聚合物的基本单位之间的共价键是通过缩合反应而形成的，而缩合反应必须从单体单位移去水的成分。然而肽键、酯键和糖苷键在稀的水溶液里，从热力学上说却是不稳定的。它们倾向于水解，并导致大的负标准自由能变化，以致在平衡时，这种键只有极少数能够存在。要在原始海洋里或在局部水溶液体系里积累任何数量的原始多肽、多糖和多核苷酸的话，那么它们的合成率就必须超过其降解率。

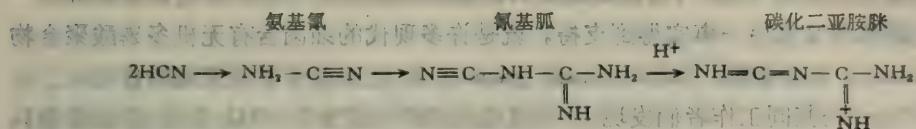
在象二个氨基酸那样的两个基本单位分子之间，只有几种方法能发生脱水缩合反应并生成大量产物。一种方法是在无水或接近无水的条件下，特别是在水沸点以上的高温下进行反应。另一种方法是借助于化学缩合剂从进行缩合的分子中抽出水而完成反应。在原始地球条件下，两种方法都有可能。

一位研究生命起源的主要人物 S. W. Fox 曾经设想，聚合物的无生源合成所涉及的缩合反应大都是加热性质的。我们将看到他和他的共同工作者证明，只要把氨基酸混合物加热到约 130—180°C 左右，便可以形成多肽。虽然在火山附近很可能发生这样的高温，可是对有机化合物，特别是糖类，加热的破坏性可能很大。所以在象多糖或多核苷酸这类脆弱的生物聚合物的形成过程中，似乎不会直接涉及到热缩合作用。

因为现在的活细胞都用一种化学缩合剂即 ATP 的焦磷酸根来促成象糖苷键、酯键、酰胺键和肽键这类水内不稳定键的形成，所以关于在生命出现以前最初的核苷酸、多核苷酸、多肽、多糖和脂类的形成中有化学缩合剂参加的想法，引起人们的注意。双环己基碳化二亚胺 (dicyclohexyl carbodiimide) 就是一个熟悉的化学缩合剂的例子，常用来促成氨基

酸的缩合而生成肽。M. Calvin 和他的共同工作者曾指出，氰化氢是碳化二亚胺衍生物的前体。他们发现，在辐射能作用下从氰化氢所形成的氨基氯，在原始地球条件下进行双聚而产生氨基胍（cyanoguanidine），后者容易转变成一种碳化二亚胺衍生物。这一缩合剂促进氨基酸形成简单的肽类，如图 37-5 所示。它也促进从醇类形成磷酸酯和乙酸酯，从正磷酸形成焦磷酸，以及从 AMP 和磷酸形成 ADP。氰酸盐和氯（图 37-6）也是有效的缩合剂，氯乙烯基磷酸盐（cyanovinyl phosphate）也是一样，后者是由磷酸作用于丙炔腈而形成，而丙炔腈则是由甲烷和氮混合物上的放电作用形成的一种主要产物。

缩合剂的形成



缩合反应

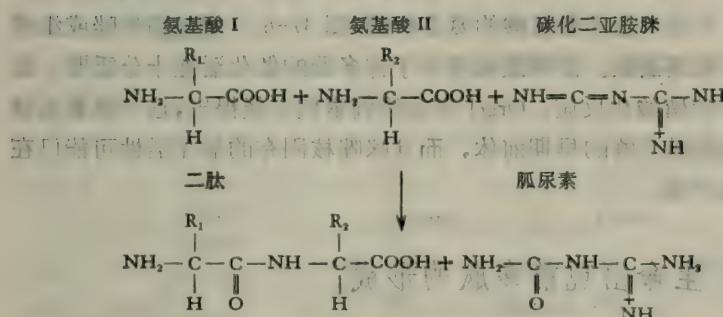


图 37-5 缩合剂的形成与作用

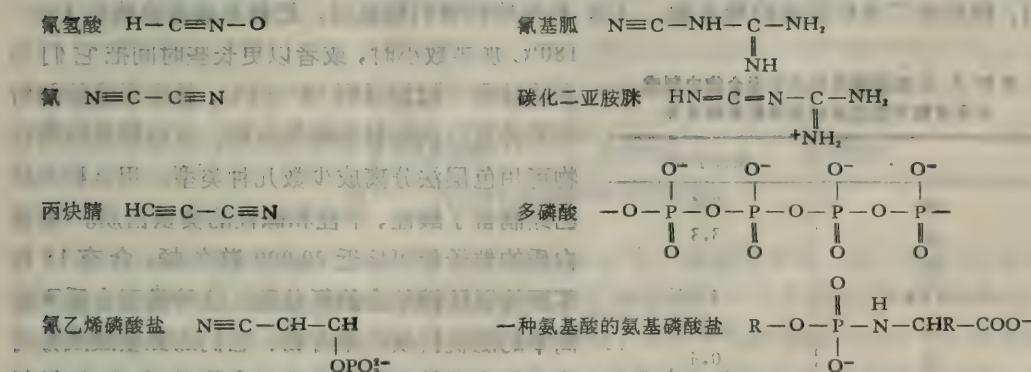


图 37-6 在模拟原始地球实验中形成的一些缩合剂

另一种浓缩单体化合物并促使其缩合成聚合物的方法是，通过某些富有的矿物特别是陶土和磷灰石表面的吸附作用。A. Katchalsky 找到了一种叫做 montmorillonite 的陶土，在很温和的条件下促成若干缩合反应，特别是促成氨基酸连接成长条多肽而且产量很高。

但是与生物学缩合反应关系最密切的还是多磷酸和多磷酸酯，它们可能曾经是最重要生物学缩合剂 ATP 的前驱者。在火山附近高温地带或者（在比较温和条件下）借着丙炔腈或氨基胍的作用，从正磷酸矿能极容易发生多磷酸。这类反应在原始地球模拟实验里

已经观察到了。

在紫外线照射或温和加热处理下，多磷酸或其酯类能使氨基酸脱水形成肽类。多磷酸酯也能促使从腺嘌呤、核糖和磷酸形成 AMP，促使从单核苷酸形成多核苷酸，促使从葡萄糖形成葡萄糖聚合物，这些已得到 G. Schramm, C. Ponnamperuma, 和其他研究者的证明。从生物学观点看来多磷酸还有其他优点，因为它们同水反应很慢，就是说，在动力学上是稳定的，但同时它们水解的 ΔG° 负值大，就是说，在热力学上是不稳定的。很可能由于这些化学优点，所以 ATP 的多磷酸根被选择成了一种生物学缩合剂。腺苷部分给了 ATP 一个容易识别的分子“柄”，借此同磷酸转移酶的活性位点相结合。简单多磷酸的一个重要进化的作用又从另一事实得到支持，就是许多现代的细菌含有无机多磷酸聚合物 [异染质 (volutin) 或异染粒, (metachromatic granules)]，起着储备磷酸键能的作用。

L. E. Orgel 与其同工作者们发现了，只须把正磷酸同尿素和 NH_4^+ 加温，便能在极其温和的条件下形成多磷酸。他们还发现，在有 Mg^{2+} 存在的情况下，这类多磷酸很容易在蒸发时同氨基酸发生反应，产生大量的氨基酸的氨基磷酸 (图 37-6)；例如同咪唑或组氨酸反应，形成一种有环氮的氨基磷酸。组氨酸残基对于许多酶的催化活性十分重要，的确，咪唑 N- 磷酸根参加若干转磷酸化反应。Orgel 和他的同事们已经提出，这一类氨基磷酸可能曾经是现代氨基和羧基激活酶的早期前体，而且咪唑核固有的催化活性可能已在简单催化剂的早期进化中被利用。

生命出现前多肽的形成

当氨基酸在模拟原始地球条件下加热、受到放电或经受多磷酸酯之类的缩合剂处理时，便形成了类似多肽的聚合物。Fox 和他的同事们描述过，把氨基酸混合物在 130—

180°C 加热数小时，或者以更长些时间把它们与多磷酸酯一起加温到 50—60°C，就会形成他们所称为类蛋白质的氨基酸聚合物。这些氨基酸聚合物可用色层法分离成少数几种类型。用这种方法已经制备了酸性、中性和碱性的类蛋白质。类蛋白质的粒子量可接近 20,000 道尔顿，含有 18 种不同的以肽键结合的氨基酸。这种类蛋白质不是简单的随机拼接的聚合物；它们的氨基酸成分可能与原来开始用的氨基酸混合物的成分很不相同。从任何一种特定混合物开始，所产生的类蛋白质在氨基酸成分上都非常恒定 (表 37-3)。用酸水解时类蛋白质产生游离氨基酸，也产生一些非氨基酸组分，后者显然是热聚合作用中的副产品。类蛋白质可被某些蛋白水解酶破坏。此外，它们还显示了蛋白质特征的一些其它性质：它们能被盐溶或盐析，并且发生可等电沉淀。它们的氨基末端顺序并不反映整个聚合物的成分。这一点也表

表 37-3 从氨基酸等克分子混合物中制成的可溶性中性类蛋白质的氨基酸成分

	克分子%
赖	8.4
组	3.3
精	3.9
门冬	4.6
谷	10.1
苏	0.4
丝	0.2
脯	2.7
甘	8.4
丙	12.1
缬	9.6
蛋	6.8
异亮	4.7
亮	6.0
胱	5.2
酪	5.1
苯丙	4.5

明了类蛋白质的非随机性质。把血红素同氨基酸混合物混合起来，然后加热，已经制成了血红素类蛋白质。

C. Krampitz 和 S. Fox 已经证明，把普通氨基酸类的氨酰基腺苷酸酯（即在形成氨酰基-tRNA 中同酶结合的中间产物）的混合物放在 pH 9.0 下保温，便能在温和温度条件下自发地形成高分子量的类蛋白质。既然在缩合剂的存在下，容易从游离腺苷酸和游离氨基酸形成氨酰基腺苷酸酯；那么，在低温下的稀水溶液里，采用类似现代蛋白质生物合成中氨酰基-tRNA 所采取的反应途径，看来类蛋白质的形成甚至是可能的。

对于生命出现前多肽类的起源还提出了其他的假说。赤堀四郎提出了最初的多肽类可能起源于氨基酸以外的其它单体单位的聚合作用，例如从氨、甲醛和氰化氢容易形成氨基乙腈。这种单体的聚合，随后水解失氨，可能产生多聚甘氨酸（图 37-7）。如果甘氨酸残基的 α -氢原子通过次级反应被适当的 R 基团置换的话，那末多聚甘氨酸的甘氨酸残基就能作为真正蛋白质的前体。

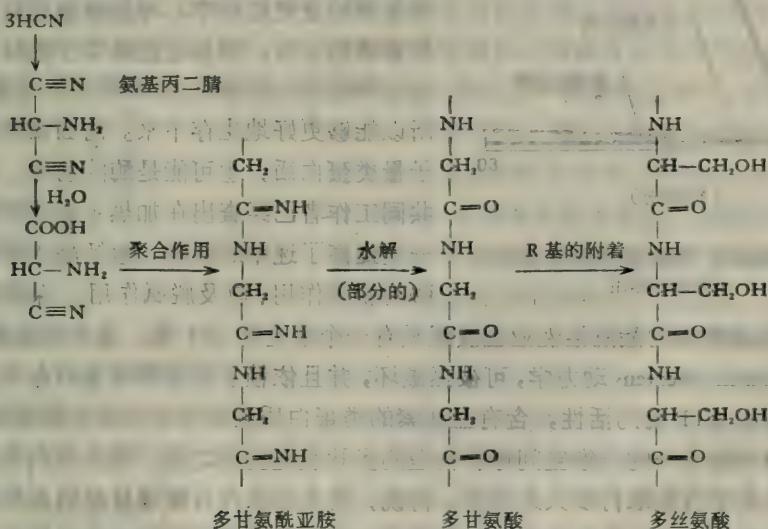


图 37-7 关于蛋白质起源的赤堀四郎假说

因为在水溶液里肽键在热力学上是不稳定的，所以一种原始类蛋白质一旦发生，就将很容易在温暖的原始海洋里遭到水解破坏。这样，就会没有一个类蛋白质分子能够长期生存的希望了。这个事实提出了一个最根本的问题，即如果每个类蛋白质分子只能短期存在，而且如果无法记录或复制“比较优良”的类蛋白质的氨基酸顺序，那就难于理解，任何一种特定类蛋白质怎么能一个残基一个残基地进行进化，改进为更适于生存的氨基酸顺序。这只是从数学考虑来说的。在今日所知道的一切有机体中，大约只有 10^{12} 种不同类型的蛋白质，可是从 20 种不同的氨基酸在理论上却能形成 10^{300} 种以上不同类型的蛋白质。我们还将回到这点。

生命出现前酶活性的起源

早期海洋的水分子提供了已知的最原始的、普遍存在的催化剂，那就是 H^+ 和 OH^-

离子，它们能促进专一酸或专一碱的催化作用。后来，当最初的有机酸和有机碱被非生物地形成时，它们便产生了最初的广义的酸和广义的碱催化剂，例如羧基和氨基。还有，矿物质也提供了多相催化作用的可能性。

在酶从简单前体的进化中，似乎很可能首先出现催化能力，而底物专一性则作为较晚的进化发展接着出现。例如，广义的酸和广义的碱作为催化剂起作用时是没有底物专一性的；它们提高了涉及质子交换的许多不同有机反应的速率。和现代酶相比，现代酶的最初前体看来很可能只能对反应速率稍有提高，也许只有几倍，而现在的酶却能将反应速率提高到 10^8 — 10^{20} 倍。

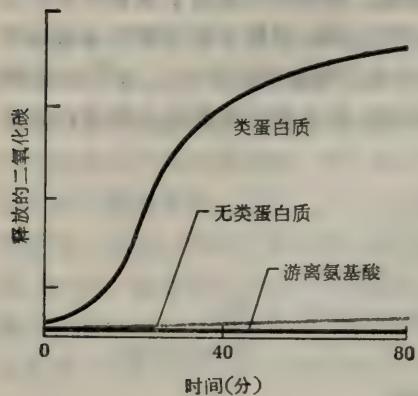


图 37-8 丙酮酸在一种类蛋白质的催化作用下的脱羧作用

最初的原始催化剂很可能是一些短链的多肽，含有一个反应性特强的 α -羧基，一个咪唑环或一个羧基，因而起广义的酸或广义的碱催化剂的作用。从这种肽类向更高效，更具有专一性的催化剂的进化过程中，可能牵涉到对肽结构上某些修饰的选择，因为这些修饰了的肽结构更为稳定，并有较大的催化力，而能更好地修改其环境，所以能够更好地生存下来。前面谈到的那些高分子量类蛋白质，也可能是酶的前体。Fox 和他的共同工作者已经查出在加热下形成的类蛋白质中一些提高了速率的活性，包括酯水解作用， α -酮酸的脱羧作用、以及脱氨作用。某些类蛋白质对于 p-硝基苯醋酸酯的酯酶活性业已发现具有一个最适的 pH 值，显示出能被底物饱和，即符合 Michaelis-Menten 动力学，可被热破坏，并且依赖于组氨酸残基的存在。含锌的类蛋白质表现出 ATP 酶的活性，含有血红素的类蛋白质则表现出过氧化物酶的活性。

在能够采取专一的三维空间球状构型的多肽长链出现之前，催化剂向着具有底物专一性的进化是不可能取得多大进展的。再说，看来如果没有能够复制氨基酸顺序的某种形式的模板的话，那么，多肽催化剂一个残基一个残基地逐渐的进化改进简直是不可能实现的。

生命出现前核苷酸和核酸的起源

前面已经指出，在模拟的原始地球条件下，已经证明产生过核苷酸类的有机基本单位即嘧啶、嘌呤核糖和 2'-脱氧核糖。此外，在模拟原始地球的实验里，还测出了象腺苷和脱氧腺苷之类的核苷。当核苷和多磷酸酯被加热或经紫外线照射时，便形成了核苷酸的混合物，其磷酸根可能存在于核糖部分的任何一个可达到的碳原子上。在乙基偏磷酸的存在下，通过加热或照射腺苷或腺嘌呤与核糖的混合物，不仅可以产生 5'-腺苷酸 (AMP)，而且可以产生 ADP 和 ATP。

核酸化学进化的下一步是在相连接的核苷酸之间形成核苷酸之间的键。在模拟原始地球实验里，在作为缩合剂的多磷酸的存在下，把核苷酸在 50—65°C 下加热，也已经观察到了这一点。这些非生物形成的低聚核苷酸当中，核苷酸间键大多数都是 2',5' 键；3'，

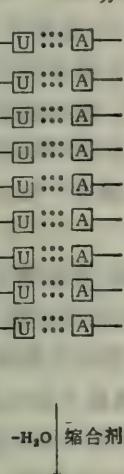
$5'$ 键似乎不易形成。现在的 $3',5'$ 键无疑地比其它可能的类型具有重大的优点，但是可能发生在比其它优先增高 $3',5'$ 键的合成作用的专一性酶的发展以后。

模板体系的非生物形成

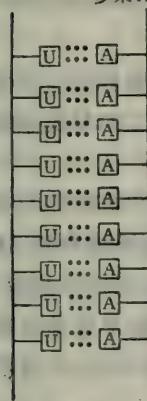
我们已经认识到多肽和多核苷酸链很可能在原始羹汁中就已很好地形成了。然而问题在于：在多肽和核酸的分子进化过程里，这些链上的单体的专一顺序是怎样被记录的或者是怎样被复制的？从现代的关于模板功能知识的有利观点来看，我们知道核酸起着

模板作用，而蛋白质却不能。模式实验已经证明，在简单得多的体系里都能够看到象 DNA 双螺旋所固有的碱基配对。当不含核糖和磷酸的腺嘌呤和尿嘧啶的简单衍生物溶液互相混合时，溶液里便自发地形成腺嘌呤-尿嘧啶复合物，借氢键保持稳定。这种复合物可用物理化学方法加以检验；事实上，在某些条件下，可以把它们从溶液中结晶出来。同样，胞嘧啶和鸟嘌呤的衍生物也会形成混合的复合物，不过胞嘧啶-腺嘌呤对或尿嘧啶-鸟嘌呤对很不稳定。用同样的理化方法检验溶解在无水溶剂里的一切可能的碱基对，证明腺嘌呤倾向于同尿嘧啶优先结合，而鸟嘌呤则同胞嘧啶优先结合。因此，专一性碱基配对并不需要核酸结构中的糖部分或磷酸二酯主链，虽然这种游离的 A-U 或 G-C 对的稳定性当然比核酸

多聚 U 的模板功能
氢键连接的
多聚 U AMP 分子



多聚 A



多聚-U 模板加速多聚 A 的形成

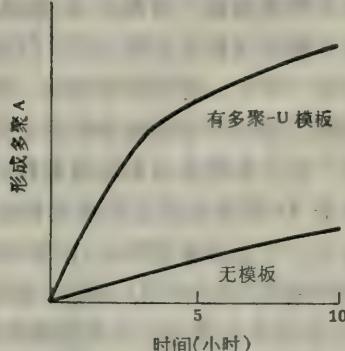


图 37-9 在多聚 U 模板上 AMP 分子的排列。在一种碳化二亚胺缩合剂的存在下，多聚-U 模板促进了多聚 A 的形成。

双链上的碱基对的稳定性要低得多。在稀溶液里，某种游离单核苷酸同单股多核苷酸中的专一核苷酸残基也优先结合。例如，当把游离的腺苷 $5'$ -磷酸和多尿苷酸混合时，游离的 AMP 分子便同尿苷酸残基通过互补碱基之间的氢键结合起来，生成一条只有一个共价主链的螺旋状结构（图 37-9）。同样，当多胞苷酸与游离的 GMP 混合时，也形成一种互补

的单股螺旋。这样，一条多核苷酸链能够发挥模板作用，同游离的互补单核苷酸结合起来。因此可以想象生命出现前的缩合剂在同模板结合的单核苷酸之间，必然曾形成核苷酸的键，从而产生一条互补的多核苷酸。

Orgel 和他的共同工作者证实了这一点。他们把水溶性碳化二亚胺缩合剂加到含有单股多聚-U 模板分子和游离 AMP 的溶液里。不仅形成了多腺苷酸，而且形成的速率比没有模板时要高得多（图 37-9）。在这些条件下形成的互补多核苷酸具有 2',5'-核苷酸键。这些实验以及其他实验证明，在无生源性原始地球条件下，多核苷酸是能够作为互补多核苷酸的非酶促合成的模板的。

不对称生物分子的起源

活物质的显著特点之一是，它的所有有机化合物，都含有一个或多个不对称碳原子，但却仅以一种立体化学构型出现。在无生命的物质中，除非在实验室条件下去设计产生具有不对称碳原子的化合物，否则是看不到立体化学不对称性的。因为氨基酸在所有可能性上首先是从无机物前体通过非生物反应而形成的，所以它们非常可能以外消旋混合物的形式在原始羹汁里出现。那么，对今天的蛋白质只含 L-氨基酸这一事实，我们又怎样解释呢？

我们已经看到，从含有全部是 L-氨基酸或全部是 D-氨基酸的多肽链，都可以形成 α -螺旋。既然任何一种已知氨基酸的 L- 和 D- 立体异构体在结构上和反应性上都是一样的，不同的只是它们互为不能叠合的镜象体，生物活性的蛋白质在理论上是可以从任何一个系列制成的。然而，从 L- 和 D- 立体异构体随机混合而成的多肽是不会形成稳定的 α -螺旋的。所以多肽所含的氨基酸或全为左旋，或全为右旋，大概具有一种生物学的优点。现在人们相信 L-氨基酸之所以被选为蛋白质的基本单位，纯粹是出于偶然，而不是他们具有任何固有的超过 D-氨基酸的优点。这种想法也提示，所有活机体都来自一个细胞系，因为今天所有活机体的蛋白质都由 L-氨基酸组成。

最后是在酶的活性位点里，保存了生物的立体专一性，这些酶都能从光学不活性的前体物质中形成一种专一的立体异构体。在催化剂本身是一个光学的对映体的情况下，我们已经观察到了某些非生物性聚合反应的立体专一性催化作用。

光学专一性在核酸复制中的重要性，从 Orgel 和他的同事们的有趣的实验得到了证明。当用完全 D-型核糖单位的多尿苷酸作为模板，来促进由氢键结合的 AMP 分子的非酶促缩合作用以形成多腺苷酸时，接着发生的是 AMP 的 D-立体异构体的缩合作用，而不是 L-立体异构体的缩合作用。所以，看来一个具有光学上相似的单体单位的多核苷酸模板一旦形成，就将优先指导光性类型相同的另一条多核苷酸链的合成，尽管形成新链的这个核苷酸库是一种 D 型和 L 型的混合物。

“生命”起源与细胞起源

我们已经看到在生命出现前的化学进化中如何形成原始的多肽、多糖、多核苷酸、催化剂和复制过程的模板。现在我们到了化学进化中的关键时刻，这时通过若干无生源性地形

成的大分子组份的偶然结合，产生了一种提高了生存价值的独特体系，能向一个更复杂的结构演化，并能生存得更好，从而出现了最初样子的“生命”。但是，具有“生命”的最初结构并不一定是一个具备细胞膜、染色体、核蛋白体、酶代谢以及自身复制性质的现代细胞。最低要求是它具有发展成一个完全细胞的潜在能力。正是在这个时刻，一堆有机分子，可能是一群低聚物或多聚物，互相结合形成一个稳定的结构。这里我们能很容易想象，这类比较稳定的结构是通过组份分子间的疏水性相互作用而发生的，从而在由周围水分子寻求它们最大熵的位置的倾向所容许的过程中，它们的非极性表面互相结合，形成一种胶粒样结构。用这种方式一群或一个具有亲水外表面和部分地疏水的内部的胶粒就能形成。这样的结构可能包括脂肪酸或脂类，它们自发地形成膜和胶粒，或具有疏水性区带的其他分子，例如含有许多具有疏水性 R 基团的氨基酸的多肽。

我们无法给“生命”下一个确切的定义以便足够去决定在从原先形成的大分子组份向一个完全细胞发展的一连串事件中，“生命”究竟从哪一点开始。不过，人们普遍承认，生命的一个最起码的要求是一个或多个能决定其本身复制的信息大分子。可是有人要问：在生命起源中，什么是第一位的？是核酸，还是蛋白质？一种观点认为：最初的原始细胞在原始催化剂（假定是多肽）首先被膜所包围或者掺入到一种凝胶状基质的时候便发生了，认为由此形成的结构“学会”用一种原始的代谢来维持自己。按照这项观点，最初的细胞是在没有核酸和遗传体系的条件下进行活动的，而核酸和遗传体系则是以后获得的。另一种观点却主张核酸最先发生，认为核酸为蛋白质的进化提供信息。第三种意见是核酸和蛋白质两者须结合在一起，才能形成一个活细胞的最初的真正前体。我们现在拟讨论根据这些假说所进行的模拟实验。

团聚体小滴

Oparin 曾提出，当一个或多个有催化活性的、大概是蛋白质的大分子，其表面上形成界面或膜的时候，便发生了细胞的最初前体，他把这个前体叫做原生物（probionts）。Oparin 提出，通过团聚（coacervation）过程，从原始浓羹里可能产生一个细胞相。这个团聚过程是一种物理现象，往往发生在高度水合了的聚合物的水溶液中。团聚作用的定义是，一种聚合物的连续单相水溶液自发地分离形成两个水相，一个水相的聚合物浓度较高，另一个水相的聚合物浓度则相对地较低。进行团聚作用的倾向，主要是聚合物的分子大小以及穿过聚合物间隙的水的多少这两者的函数。在原始有机羹汁中所发生的这种团聚过程可以产生由聚合物浓度高的那一相所组成的微小滴。

Oparin 进一步假设，某些小滴可能捕获一种原始催化剂（假定是一种多肽）以及象葡萄糖或氨基酸之类的底物分子。这样的团聚体小滴因而具有一种简单的单一反应的“代谢作用”。他还假设，这种进行代谢的小滴又进一步同周围的水环境互相作用，获得能够掺入到自己结构中来的其他化合物，从而引起了小滴的增长。当小滴长大到物理因素所限制的体积的时候，小滴便会分裂为更小的小滴，正象油在水中的粗乳浊液在振荡时分散成细乳浊液一样。在此如此形成的后代小滴当中，有些小滴可能保留从亲代小滴衍生出来的催化剂分子，因而能“增长”成另一代的小滴。

Oparin 和共同工作者用团聚体系统做过一些有趣的模式实验，来说明他的假说是可

能的。在某些条件下，多肽、多糖或 RNA 的浓水溶液能被诱导形成一些团聚小滴，小滴体积为 10^{-8} — 10^{-6} 立方厘米，多聚体浓度为 5—50%。酶可以掺入到这种小滴里去(图 37-10)。



图 37-10 含酶的合成团聚小滴中的原始代谢作用

左 一个能从葡萄糖1-磷酸合成麦芽糖的小滴

中 一个表现电子传递的小滴

右 一个能在照明情况下把电子从抗坏血酸通过叶绿素传递给染料的团聚体小滴

把含有糖原磷酸化酶的团聚体小滴放到葡萄糖 1-磷酸溶液里时，小滴内便会出现一种淀粉样聚合物。如果小滴内还含有把淀粉分解为麦芽糖的 β -淀粉酶的话，那么它们就会把从介质中得来的葡萄糖 1-磷酸转化成麦芽糖，麦芽糖又回到介质里去。还可以制成合成的团聚体小滴，其中含有黄素蛋白质 NADH 脱氢酶和一种可还原性染料。这类小滴能从外界的 NADH 接受还原当量，并把它们传递给染料分子，然后后者可以以还原形式释放到介质里去。可以把叶绿素掺入到一个聚合物来制造光合性小滴；在照明下，这种小滴促进抗坏血酸对染料的还原作用，这是 Hill 反应的一个模型。

Oparin 的团聚体小滴显然是个模型。它们是从生物合成的物质制成的，而不是在模拟原始地球条件下形成的。再者它们也不能供自身复制或进化之用。

类蛋白质微球

Fox 和他的共同工作者详细地描述了另一类称为微球 (microsphere) 的自我生成的细胞样结构。在适宜的 pH 和盐浓度的条件下，让加热生成的类蛋白质的热浓溶液慢慢冷却，便会自发地产生这种不寻常的微球体。微球为相当一致的球形小滴，直径约 2.0 微米(图 37-11)。在适当地调整 pH 时，微球的外层界面显示出双分子层结构，和自然膜相似；尽管微球不含脂类，但确含有具非极性的能提供类似脂类屏障的 R 基团的氨基酸。看来，微球在 pH3—7 时相当稳定。把微球转移到高渗或低渗的盐溶液中时，微球便会皱缩或者膨大，表明它们有一个半透性膜包围内部间隔，在间隔中含有被捕获的盐类和可溶性类蛋

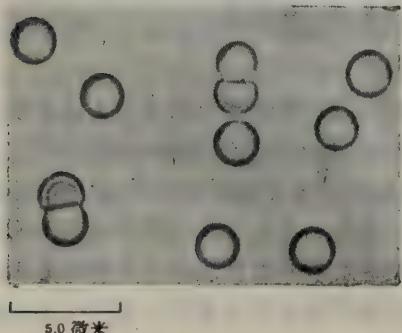


图 37-11 类蛋白质微球，它们的平均直径为 1.9 微米。

白质。

微球表现几种类型的细胞样行为。适当地改变 pH 或者接触 $MgCl_2$ 都可以诱导微球进行裂解或分裂。另外，如果让微球悬浮液静置 1 或 2 星期，它们便会进行一种出芽过程，这类芽体可以脱离母体微球并形成第二代的微球（图 37-12）。类蛋白质微球也显示接合生殖的样子。也能证明当其从具有催化活性的类蛋白质形成时，它们便加速化学反应。

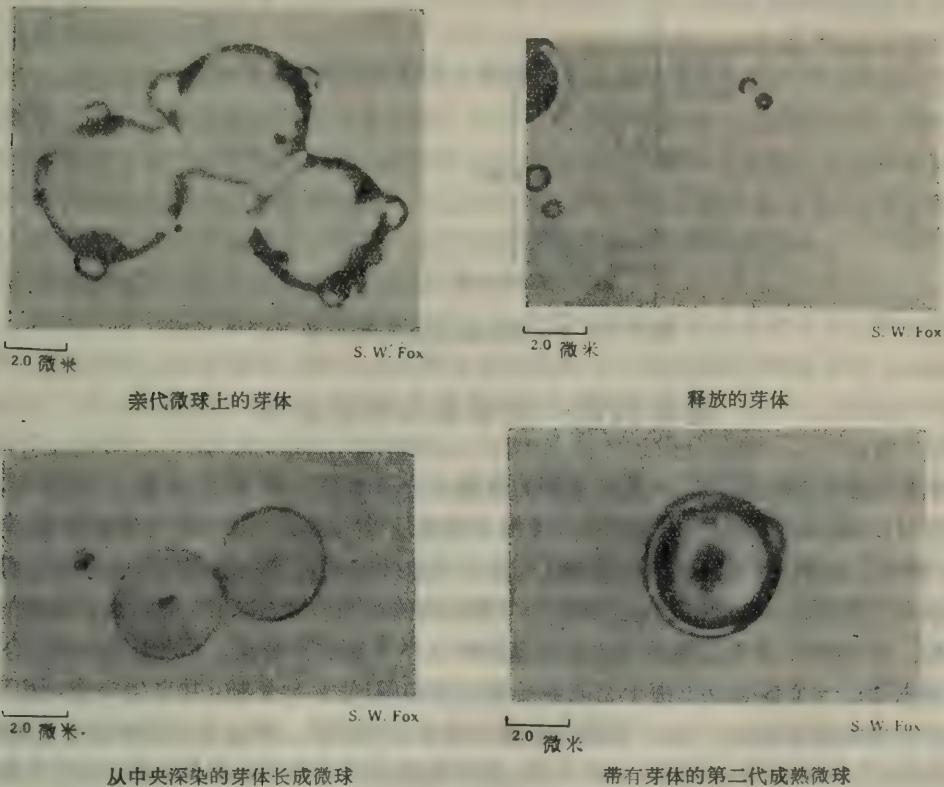


图 37-12 微球的出芽和复制 *After M. J. Fox*

Fox 曾经指出：微球实际上带有潜在的信息，因为它们是从非偶然氨基酸成份的类蛋白质形成的。按照他的见解，类蛋白质的形成乃是遗传信息进化中的第一个主要步骤；第二步便是形成微球的非偶然结构。

Fox 及共同工作者在其较近研究中证明：富于赖氨酸残基的碱性类蛋白质有选择地与同型多核苷酸多聚 C 和多聚 U 结合，而不与多聚 A 或多聚 G 结合。另一方面，富于精氨酸的类蛋白质却有选择地与多聚 A 和多聚 G 结合。以这种方法就能够用类蛋白质内的信息选择多核苷酸。此外，值得注意的是当氨基酰腺苷酸同类蛋白质-多核苷酸复合物一同保温时，便会产生低聚肽类，这就具有核糖体的一些特征了。Fox 提示带有这种原始化学信息的类蛋白质可能把信息传给一种原始核酸；某些类蛋白质和多核苷酸之间相互作用的专一性提示了遗传密码的开端。

Fox 关于生殖细胞起源的综合性假说提出，在最初的信息大分子中蛋白质是首要的，简要表明于图 37-13。

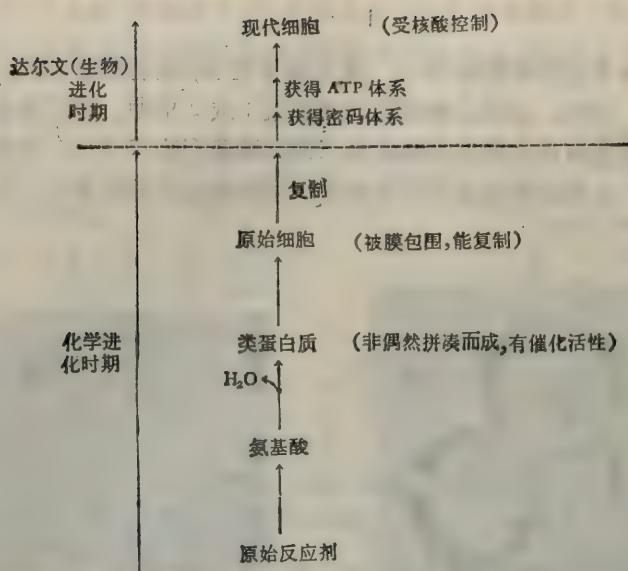


图 37-13 Fox 的生命类蛋白质起源假说

基因假说：没有蛋白质的生命

生命起源的另一假说以核酸在最初的信息大分子中是首要的为根据。1929年，遗传学者 H. Muller 阐述了这个假说。他提出生命从一个或多个基因的无生源性形成开始。Muller 主张，活体系的最低性能(即进行代谢的能力和自我复制的能力)早已经潜在地存在于基因之内，只要把基因放在一个细胞内的适当分子环境中，便能为子细胞的形成编码。当 Muller 首先发表这一主张时基因的化学本质尚不明确。用现代术语来说，这种假说主张：一个核酸分子由于它能够给蛋白质编码，能自行复制，并发生突变，因而可能具有生命的潜在能力。至于界膜的获得和催化剂的发展，则认为是较晚的进化事件。若干年间，基因假说没有得到充分的发展，但是随着分子遗传学较新知识的出现，有些研究者特别是 N. W. Pirie, N. Horowitz, F. H. C. Crick 和 L. E. Orgel 对此说阐明甚详。

我们不妨检查一下支持核酸假说的三个主要方面的思想和证据。一个来源于寄主细胞内病毒分子结构和自行复制的现代知识。另一个来源于现代细胞内核苷酸所进行的广泛的生物学功能，第三方面的思想则来源于核糖体 RNA 在蛋白质合成中的作用。

病毒，这个常常被看成是“处于生命线上”的结构，可以想象代表最初简单原核细胞的前体。最简单的象烟草花叶病毒，只不过是一个由带有信息的单个核酸分子和一层外壳所组成的复合物，外壳则由相同蛋白质单体重复而成，只起着一种保护鞘的作用。另一方面，最大和最复杂的病毒可含有一层磷脂膜，并具备一种或多种酶促活力；确实，它们的在大小和最简单的原核细胞相差不大。在最微小的病毒里，核酸分子只含几个基因，不过在最大的病毒，象牛痘和其他动物痘病病毒中，核酸却含有几百个基因。

曾经长期琢磨过已知的最大病毒可能就是很小的细胞。一群很微小的细菌只能在特定寄主细胞里面营寄生生活；最大的动物病毒，在体积和感染行为上同这些细菌有些相似。这些寄生型原核生物包括衣原体属 (*Chlamydia*) 和立克次氏体：衣原体包括人类鹦

鹉热和淋巴肉芽肿的传染原；立克次氏体是体积稍大的有机体，能引起人体发生蝉热和落基山斑疹热。鹦鹉热的病原体多年来被认为是病毒。这种病原体不能脱离寄主机体以单独游离形式培养，粒子量约为60亿道尔顿，兼含DNA和RNA，能催化若干代谢反应。较近，根据对病毒所下的更严格、也许有些武断的定义，把鹦鹉热病原体又分类列入细菌一类。按照这条定义，病毒是一种在其生命周期中有一个细胞内相的病源体，它(1)只能从其本身的核酸进行繁殖，(2)只含有一种核酸，不是RNA，就是DNA，(3)不含ATP-ADP体系来传递代谢能量，以及(4)不能生长或分裂成两个。但是，鹦鹉热病有机体是一个极端原始的和发育不全的细胞。它不但很小(0.2—0.5微米)，结构简单，而且完全缺乏一种ATP-ADP体系和磷酸转移酶。它虽然确含有合成它的某些组份所需要的酶，但却缺乏糖酵解和三羧酸循环所需要的各种酶。这种机体大概依靠寄主细胞来获得ATP能量及其前体生物分子。鹦鹉热病有机体虽被正式划为细菌，但是它可能被视为代表从病毒逐步进化到真正原核细胞过程中的一个过渡类型。另一方面，许多研究者(如果不是大多数人的话)认为，它可能代表一度是完全的细菌所发生的一种突变性退化，当它变成依赖于寄主细胞时就不可逆地丧失了一些基因。

现代机体中核苷酸功能的显著多样性，提示了支持核酸在生命起源中起核心作用的另一方面论证。核苷酸是DNA和三种主要类型的RNA的结构的单体单位(monomeric units)。专一的核苷酸或其衍生物也用来作为能量载体(ATP, ADP)、氢或电子载体(NAD, NADP, FMN或FAD)、糖的载体(UDP)、脂类组份的载体(CDP)、以及酰基载体(CoA)。这样，在新陈代谢和能量转移的一切方面、以及在遗传装置上，核苷酸都是重要的功能性元素。从核酸又可以传下特有的一些磷酸二酯键合，它把一个接一个的甘油残基或核糖醇残基依次连接成磷壁酸质的骨架，以及把甘油和其他醇类连接成磷酸甘油酯的骨架。这些关系强有力地提示，细胞的许多基本的代谢和遗传机构可能是从核苷酸进化或发展而来。

现在，我们也许能开始理解，生命的原始形式是怎样在核苷酸化学的基础上发生的。最原始的核酸可能通过上述无生源性形式形成的多磷酸(ATP的可能前驱)的作用，在无酶条件下自行复制。需要毗啶的脱氢酶的最初形式可能由低聚核苷酸组成，这种低聚核苷酸的一个单核苷酸单位含有可还原性菸酰胺环作为碱基，而不含任何标准碱基。因此，一个以核苷酸为基础的原始生命，没有蛋白质也能存在，这种说法似乎是有道理的。上文已描述过，关于多核苷酸能与单核苷酸进行碱基配对，从而能复制其信息的有关模式反应。但是这一点也是十分明确的，即没有蛋白质、特别是没有酶，在进化上便不可能有多大进展。如果基因首先发生，那么，最初的蛋白质又是怎样发生的呢？

近来，特别是Crick和Orgel根据分子遗传学的现代发展，都讨论过这个问题。他们都认为生命起源可能从核糖体、转移RNA和遗传密码三者的起源中得出真正的答案。他们见解所根据的事实是，通过核糖体进行蛋白质合成，涉及到两种大体上不起模板功能的核酸，即tRNA和rRNA。tRNA确有一个反密码子三联体，但这种三联体只构成tRNA整个结构中极小的一部分。象球状蛋白质一样，tRNA和rRNA都是单股聚合体，因为两者都具有可能由于链内碱基配对而形成的复杂而折叠的三维结构。这两种形式的RNA被认为是原始体系的要害部分，这个体系“学会了”怎样制造真正的信息蛋白质，而不制造由氨基酸单纯拼凑而成的聚合物。最初的原始核糖体被看成是全由RNA组成。因此，最初的

原始核糖体被视为全部含有 RNA。(附带提一下,我们可能注意到,现代原核细胞的核糖体内约含有 65% RNA,比以后发生的真核细胞所含的要多得多)。这种没有蛋白质的原始核糖体在 tRNA 的参加下,也许能够制成最初级的肽类。tRNA 分子较小,被猜想大概借碱基的配对,能够连接到原始核糖体 RNA 上去。这样的原始 tRNA 或许有能力在反密码子位点或其附近,以非共价键形式与一种特定的氨基酸结合,推想可能形成一种鸟笼状氨基酸结合区。的确,现在对于 tRNA 的专一性碱基顺序及其对应的氨基酸两者之间可能的分子关系或构型关系,考虑较多。例如,所有含疏水 R 基团的氨基酸的密码子为什么都有 U 作为第二个字母?可能想象,tRNA 在一个特定容积的空腔里,能以非共价形式与某个氨基酸的 R 基团结合。也可以设想一系列“装载”了的 tRNA 分子在一个核糖体 RNA 分子的表面上如何排列成这样一种方式,恰好使一个氨基酸的羧基同下一个氨基酸的氨基并列在一起。如果有一种在生命出现前的缩合剂,例如多磷酸,从适当排列成行的羧基和氨基中移去水的成分,这时就可能发生一个肽键。这样,形成原始多肽的机构可能只由两种不同类型的特殊地折叠起来的 RNA 所组成。在进化的这一时期,在专一性氨基酸激活酶出现以前,氨基酸与 tRNA 之间的结合,可能是非共价键式的。因此,这一体系对氨基酸的专一性可能极其有限。但是,tRNA 和核糖体 RNA 的原始形式可能执行了一种酶分子的一种重要功能,就是提供专一性结合位点来安排那些疏松结合的氨基酸底物,以使它们在可能是一种多磷酸衍生物之类的非酶促缩合剂的参预下互相作用。

下一步骤可能是最初模板的发展,它用来规定 tRNA 的顺序,因而也就规定了 tRNA 所载运的氨基酸的顺序。这个模板可能由一个原始核糖体 RNA 环提供,或者由另一股 RNA 提供,后一种 RNA 不仅能与原始 tRNA 结合,而且能与原始核糖体结合,形成最初的信使 RNA。这种 RNA 可以为一个或多个肽的顺序编码,使核糖体装置更加稳定,提高活性。这些多肽类可能就是今天核糖体蛋白质的前体。

因此,按照这个见解,代表原始的原基因的即最初的信息大分子的,是 RNA,而不是 DNA。DNA 发生得比 RNA 较晚,提供一个更永久的、一个能自行复制的记忆印迹。有两个生物化学方面的事实支持此说。受 RNA 指导的 DNA 聚合酶的发现(见反转录酶),表明在概念上接受 RNA 作为最初的信息核酸,是不会有障碍的。再者,我们也可以回忆一下,DNA 的 2'-脱氧核糖核苷酸基本单位的直接前体就是相应的核糖核苷酸。

最后,不论核酸假说的细节如何,此假说的说服力最强的和压倒一切的特点是,在没有酶和蛋白质存在时,通过无生源性催化剂或缩合剂的作用,多核苷酸能起模板作用,以这种方式可形成另一条互补的多核苷酸。此外,在没有蛋白质的情况下,由于纯粹物理因素如紫外线照射的结果,多核苷酸又能发生突变,从而使以核酸为基础的“生命”能够进行进化上的修饰。

这些观念初看似乎引人入胜,但是它们却存在着若干重大疑问。最关键的一个是遗传密码的起源问题。除了所有疏水性氨基酸均以 U 为第二碱基的三联体来编码这一事实以外,关于证明编码三联体对其所编码的氨基酸负有任何空间关系或化学关系的证据,是绝无仅有的。模型建立的实验简直没有揭示氨基酸与其密码子之间分子相应关系的满意图象。由于这一原因,有人提出,遗传密码是“冻结事故”的结果。正是在遗传体系分子进化中的这一步还没有满意的模型或学说。诚然,Crick 和 Orgel 曾经指出,主张基因和遗传密码可以从宇宙中已经有智慧生命的星体中通过宇宙飞船到地球上来的这一种说

法,还不能说是完全不可能的。然而这是一个倒退,退回到 20 世纪初期瑞典化学家 S. Arrhenius 所提出的“汎精子”的陈旧假说的水平。Arrhenius 提出,地球上的生命是从宇宙的边缘借宇宙风飘浮到地球上的种子或精子而开始的。当然,这种观点并未回答问题,因为还必须解释在别的星体上生命又是怎样发生的。

上述蛋白质派和核酸派的相反见解不一定是互相排斥的。其他科学家曾经同样有力地主张,在最终生存下来的单个细胞系的起源上,同时需要原始核酸和原始蛋白质两者。也许当我们对于蛋白质合成中核糖体功能所涉及的基础的分子间相互作用以及氨基酸和其密码子之间的结构关系有了更多的了解时,我们还可能找到分子方面的某种线索成为这一问题的重要钥匙。

生化进化中的较后步骤

一个模板体系、一套催化剂和一个包膜一旦发生,不论发生的先后次序如何,细胞进化过程就比较容易理解了。大概在生物进化的早期里,化学进化仍然继续一些时候,以便最初的细胞继续从环境中选择那些使其生存力提高的有机分子。最后,最初的厌气型异养体利用有机化合物作为能源和碳的来源,最终耗竭了原始羹汁里的营养物质。此时由于(自然)选择压力的结果,于是发生了能利用二氧化碳的最初的自养型细胞和随后发生的能利用光作为能源的最初的光合细胞。原始羹汁里有机氮化合物的耗竭又导致了固定大气中氮的能力的完善发展。在光合型固氮蓝藻中,对变成完全缺乏有机碳和氮化合物的原始海洋的代谢性适应,达到了高峰。在大气中开始积蓄氧以后很久大概出现了最初的、消耗氧气的需氧型细胞;同厌氧型发酵机体相比,需氧型细胞能从每个分子的象葡萄糖之类的外源性营养料中摄取更多的能量,在选择上是有利的。需氧呼吸和氧化磷酸化的进化,完成了放能代谢过程基本环节的发展,这种放能代谢在今天的活机体内仍然存在。虽然大多数证据和当前一般见解都支持细胞代谢进化中的这一系列事件,但是不能排除还有其他顺序发生的可能性。事实上,有些研究者已提出自养型细胞有可能最先发生。

这些发展大约历时 25 亿年,约占地球史一半以上。仅仅在这些发展完成以后,才能发生细胞进化中第二次飞跃,即真核细胞的出现这一事实被正确地认为是生物进化中最重要事件之一。也许生物进化中的第三大步就是二倍体占优势的真核生物的出现,时间约在 7 亿年以前。有了生物进化中的这些重大步骤,细胞便可能在更广阔的范围内进行分化。

有一个假说得到近代研究的大力支持,此说主张真核细胞的发生是代谢上细胞内共生作用的结果。真核细胞大概从大型厌氧型原核细胞进化而来,它们的发酵能力可能已跟不上其能量的需要。这类厌氧型细胞可能吞噬光合型或异养型小原核细胞,后两者因而成为代谢的内共生体,寄主细胞提供糖酵解发酵能力,而寄生体则提供光合能力或呼吸能力。这类内共生体可能是现在的叶绿体和线粒体的先驱,能从日光或有机燃料中摄取能量,从而极大地提高了厌氧型寄主细胞的生存价值。真核细胞是较大的,变化更多的细胞,有更好的装备来作用于环境,从而改变其环境,并能通过其大得多的基因组进行许多方式的分化。在整个生物进化过程中,由于基因组的碱基顺序受到化学的或物理的诱导而发生改变,形成了非致命性的突变体,这就有可能选择在当时生活条件下能生存得最好的那

些机体。

今天我们所知道的生物机体异常复杂。在导致这些复杂机体的所有互相连锁的事件中，最突出的仍然是化学进化何时终止、生物进化何时开始的分界一事。为什么，而且在什么条件下，有机化合物的全部零件装配成一个自行组织和自行复制的体系？我们今天所知道的化学和物理学的法则并不排除物质的自行组织，不过它们对这一过程没有提出简明易懂的解释。我们最大的任务就在于正确地表述有机化合物自行组织和自行复制体系的分子逻辑学。

生命起源所提出的问题不一定停留在哲学推测上。它们是可以付之实验的，因为有了有机分子性能和生物化学的现代知识，就有可能在实验室里加速那些导致或参加有机分子进行自行组织倾向的化学过程。这样，活机体可能就是有机化合物在适当物理条件下自行组织体系进化的不可避免的结果。的确，它们可能只是物质向着我们今天还未理解的组织水平进一步进化中的一些阶段而已。

摘要

地球形成于 46 亿年前。据信，在最初 15 亿年中，通过紫外线、闪电、冲击波、加热以及其他形式能量的作用，大气层里的 H_2 、 NH_3 、 H_2O 和甲烷等组份已经形成了有机化合物。这些化合物当中约有 30 或 40 种原始生物分子，其中包括氨基酸、嘌呤、嘧啶、戊糖、己糖、脂肪酸和其他化合物。这类化合物及其前身已经在古老的化石里、在陨石里和在星际空间中被发现了。氰化氢在模拟的原始地球条件下很容易形成，并且是通过氨基氰、丙炔腈和腈类所形成的含氮有机分子的主要前体。氰化氢又是包括氨基胍、碳化二亚胺和尿素在内的有机缩合剂的前体。有机分子随后的化学进化大概是一步一步地进行的。经过加热、有机缩合剂、多磷酸和氨基磷酸，或者陶土和其它矿物催化剂的作用，能够把氨基酸脱水而形成多肽。氨基酸混合物加热到 100 度以上，容易形成原始多肽，称为类蛋白质。这种类蛋白质具有非偶然凑合的氨基酸成份，显示出现代蛋白质的若干性能，而且也有初步的催化活性。在生命出现以前的最初的“酶”大概很少专一性，催化力低；它们可能利用了广义的酸或广义的碱基团作为催化中心。核苷酸和多核苷酸也是在温和的原始地球条件下，特别是在多磷酸或氨基磷酸的作用下形成的。简单的多核苷酸可以作为模板供互补多核苷酸非生源性形成之用。

原始细胞样结构可以通过团聚过程而形成，或者通过由疏水性相互作用（即周围水分子寻求最大熵的倾向）所引起的胶粒形成过程而形成。A. I. Oparin 曾设想过由聚合物组成的团聚体小滴中可能已经掺入了原始催化剂。较近，S. W. Fox 描述过，类蛋白质微球显示许多方面的细胞样行为。据说这种结构是在没有核酸的条件下发展起来的，核酸则是以后获得的。另一总的假说是，必须先有原始基因，然后添加蛋白质。支持这个观点的，有现代病毒的结构，有现代生物化学中核苷酸的多方面重要性，还有自行复制的能力。在任一种情况下，都需要有某些记录或编码的方法因而也需要自我复制的方法，也需要有进一步进化的能力。遗传密码的发展可能曾经是生命起源中的基本事件。物质的自我组织过程则是问题的核心。

参考文献

书藉

- Cairns-Smith, A. G.: *The Life Puzzle*, University of Toronto Press, Toronto, 1971.
- Calvin, M.: *Chemical Evolution: Molecular Evolution towards the Origin of Living Systems on the Earth and Elsewhere*, Oxford University Press, London, 1969. Reconstruction of chemical evolution from molecular paleontology and from simulated primitive-earth experiments.
- Jukes, T. H.: *Molecules and Evolution*, Columbia University Press, New York, 1966.
- Kenyon, D. H., and G. Steinman: *Biochemical Predestination*, McGraw-Hill, New York, 1959.
- Margulis, L.: *Origin of Eukaryotic Cells*, Yale University Press, New Haven, Conn., 1970.
- Miller, S., and L. E. Orgel: *The Origins of Life*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J. 1973. Chemical problems in prebiotic organic synthesis are stressed.
- Monod, J.: *Chance and Necessity*, Knopf, New York, 1971. Philosophical discussion on molecular biology and the phenomenon of life.
- Oparin, A. I.: *Life: Its Origin, Nature, and Development*, Academic, New York, 1964.
- Orgel, L. E.: *The Origins of Life: Molecules and Natural Selection*, Wiley, New York, 1973.
- Rohlfing, D. L., and A. I. Oparin (eds.): *Molecular Evolution: Prebiological and Biological*, Plenum, New York, 1972. A volume honoring Sidney W. Fox.
- Shklovskii, I. S., and C. Sagan: *Intelligent Life in the Universe*, Holden-Day, San Francisco, 1966. Origin of terrestrial and extraterrestrial life.
- Woese, C. R.: *The Genetic Code*, Harper & Row, New York, 1967. The origins of the genetic code and of living organisms are discussed.
- Wooldridge, D. E.: *The Machinery of Life*, McGraw-Hill, New York, 1966. Unification of the naked-gene and probiotant hypotheses.

论文

- Barghoorn, E. S.: "The Oldest Fossils," *Sci. Am.*, 224: 30—53 (1971).
- Black, S.: "A Theory on the Origin of Life," *Adv. Enzymol.*, 38: 193—234 (1973). An interesting hypothesis and experiments on the origin of the genetic code.
- Crick, F. H. C.: "The Origin of the Genetic Code," *J. Mol. Biol.*, 38: 367—379 (1968). A provocative article emphasizing the origin of amino acid-transfer RNA specificity.
- Crick, F. H. C., and L. E. Orgel: "Directed Panspermia," *Icarus*, 49: 341—348 (1973). The hypothesis that living organisms were deliberately transmitted to the earth by intelligent beings on another planet.
- Eglinton, G., and M. Calvin: "Chemical Fossils," *Sci. Am.*, 216: 32—43 (1967). The development of organic geochemistry.
- Eigen, M.: "Self-Organization of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules," *Naturwiss.*, 58: 465—523 (1971). An important theoretical paper (in English).
- Ferris, J. P.: "Cyanovinyl Phosphate: A Prebiological Phosphorylating Agent," *Science*, 161: 53—54 (1968).
- Fox, S. W.: "Origin of the Cell: Experiments and Premises," *Naturwiss.*, 60: 359—369 (1973). Recent statement of Fox's views (in English).
- Lacey, J. C., and K. M. Pruitt: "Origin of the Genetic Code," *Nature*, 223: 799—804 (1969). An attempt to provide a model for the interaction between nucleotides and polypeptides.
- Lohrmann, R., and L. E. Orgel: "Prebiotic Activation Processes," *Nature*, 244: 418—420 (1973). Catalytic role of imidazole, urea, and Mg^{2+} in Prebiotic condensation reactions.
- Oparin, A. I.: "The Origin of Life and the Origin of Enzymes," *Adv. Enzymol.*, 27: 347—380 (1965). The most recent statement of the probiotant hypothesis.
- Orgel, L. E.: "Evolution of the Genetic Apparatus," *J. Mol. Biol.*, 38: 381—393 (1968). A comparison of life without nucleic acids vs. life without proteins.
- Raff, R. A., and H. R. Mahler: "The Nonsymbiotic Origin of Mitochondria," *Science*, 177: 575—582 (1972).

[卢惠霖译 任邦哲校]

附录 I 生物化学年表

下面列出生物化学历史中的重大事件，实验的发现，或观点的说明。1950年以后的名单多少作了一点任意的选择。它们几乎肯定不能恰当地评介一些重大的发现和某些作出重要贡献的个人。这是由于现代生物化学研究的迅猛推进，由于研究工作者众多，并且由于经常同时的发现不仅是出自一两个或两个以上的人，而且出自两个或更多的小组。

生物化学最早起源于人们对空气在食物利用中所起的作用和对发酵作用的本质等理论的推测。Leonardo da Vinci (1452—1510) 是首先把动物营养比作蜡烛燃烧的人，van Helmont (1648) 进一步发展了这方面的推理。然而，直到十八世纪后期化学成为一门科学的时候，生物化学才开始它的真正历史。

- 1770—1774 Priestley 发现氧，并指出它由动物消耗而由植物产生。
- 1770—1786 Scheele 从天然来源中分离出甘油和柠檬酸，苹果酸，乳酸和尿酸。
- 1773 Rouelle 从尿中分离出尿素。
- 1779—1796 Ingenhousz 证明绿色植物产生氧时需要光，他也证明了植物利用二氧化碳。
- 1780—1789 Lavoisier 证明了动物需要氧，认识到呼吸就是氧化，而且最先测得人的氧消耗量。
- 1783 Spallanzani 推断蛋白质在胃中的消化是一个化学过程，而不是机械过程。
- 1804 Dalton 阐明了原子学说。
- 1804 deSaussure 作出了光合作用中气体交换的化学计量的第一张平衡单。
- 1806 Vauquelin 和 Robiquet 最先分离出一种氨基酸——天冬酰胺。
- 1810 Gay-Lussac 推断出生醇发酵的方程式。
- 1815 Boit 发现了旋光活性。
- 1828 Wohler 从无机成分合成了第一个有机化合物：从氰酸铅和氨合成了尿素。
- 1830—1840 Liebig 发展了定量分析技术并将其运用于生物系统。
- 1833 Payen 和 Persoz 净化了小麦淀粉糖化酶(淀粉酶)，证明它不耐热，并提出酶在生物学中的极端重要性。
- 1837 Berzelius 提出关于发酵作用的催化本质的设想。稍后他证明乳酸是肌肉活动的产物。
- 1838 Schleiden 和 Schwann 阐明了细胞学说。
- 1838 Mulder 作出了对蛋白质最早的系统研究。
- 1842 Mayer 阐明了热力学第一定律及其在活机体上的适用性。
- 1850—1855 Bernard 从肝中分离出糖原，证明它转化成血中葡萄糖，从而发现糖原异生过程。
- 1854—1864 Pasteur 证明了发酵作用是由微生物引起的，并且推翻了自然发生假说。
- 1857 Kölliker 在肌肉中发现线粒体(“肌粒”)。

- 1859 Darwin 发表了物种起源
- 1862 Sachs 证明了淀粉是光合作用的一种产物。
- 1864 Hoppe-Seyler 首先制成一种蛋白质晶体：血红蛋白。
- 1866 Mendel 发表了基因的分离原则和自由组合原则。
- 1869 Miescher 发现了 DNA。
- 1872 Pfluger 证明了动物的所有组织而不单是血液和肺消耗氧。
- 1877 Kühne 建议用酶这个术语，而且把酶与细菌区别开。
- 1886 MacMunn 发现组织高铁血红蛋白，后来再命名为细胞色素。
- 1890 Altmann 描述了线粒体染色法，研究了它们的分布，并提出它们具有代谢的和遗传的自主性的设想。
- 1893 Ostwald 证明了酶是催化剂。
- 1894 Emil Fischer 证明了酶的特异性以及酶和底物之间的锁与钥匙的关系。
- 1897 Bertrand 创造辅酶这一术语。
- 1897 Edward Buchner 发现在无细胞的酵母提出物中也能发生生醇发酵。
- 1897—1906 Eijkman 证明脚气病是一种食物性缺乏症，而且米糠的一种水溶性组分能医治。
- 1901—1904 Takamine 和 Aldrich 还有 Abel，首先分离出一种激素——肾上腺素，而 Stoltz 则实现了它的合成。
- 1902 Emil Fischer 和 Hofmeister 证明了蛋白质是多肽。
- 1903 Neuberg 首先采用生物化学这一术语。
- 1905 Harden 和 Young 证明生醇发酵需要磷酸，而且分离出第一个辅酶 CoI，后来证明它是 NAD。
- 1905 Knoop 推断出脂酸的 β 氧化。
- 1907 Fletcher 和 Hopkins 证明乳酸是在肌肉无氧收缩过程中定量地从葡萄糖形成。
- 1909 Sörensen 证明 pH 对酶作用的影响。
- 1911 Funk 分离出具有维生素 B 活性的晶体物并创造了“vitamin”这一名词。
- 1912 Neuberg 提出发酵的一种化学途径。
- 1912 Batelli 和 Stern 发现脱氢酶。
- 1912 Warburg 提出有一种激活氧的呼吸酶，发现它为氰化物所抑制，并证明呼吸作用中需要铁。
- 1912—1922 Wieland 证明脱氢反应中氢的激活。
- 1913 Michaelis 和 Menten 发展了酶作用动力学说。
- 1913 Wilstätter 和 Stoll 分离并研究了叶绿素。
- 1914 Kendall 分离出甲状腺素。
- 1917 McCollum 证明大鼠由于缺乏维生素 A 而有干眼病。
- 1922 Ruzicka 认识到异戊间二烯是构成许多天然产物的基本单位。
- 1922 McCollum 证明缺乏维生素 D 产生佝偻病。
- 1922 Warburg 和 Negelein 首先测量了光合作用的量子效率。
- 1923 Keilin 再次发现组织血红素（细胞色素）并表明在呼吸活动中它们的氧化状

态的变化。

- 1925 Briggs 和 Haldane 对酶动力学说作了重要的改进。
- 1925—1930 Levene 阐明了单核苷酸结构并证明它们是核酸的基本单位。
- 1925—1930 Svedberg 为测定蛋白质的沉降率发明了超速离心机。
- 1926 Sumner 首先制出一种酶——尿素酶——的结晶并证明它是一种蛋白质。
- 1926 Jansen 和 Donath 从米糠中分离出维生素 B₁ (硫胺素)。
- 1927 Muller, 还有 Stadler, 用 X 射线证实了基因的人工突变。
- 1927 Windaus 证明了麦角固醇是维生素 D 的前身物。
- 1928 Eggleton 在肌肉中发现磷酸肌酸。
- 1928 Euler 分离出胡萝卜素而且证明它具有维生素 A 活性。
- 1928—1932 Szent-Györgyi, 以及稍后 Waugh 和 King, 分离出抗坏血酸(维生素 C)。
- 1928—1933 Warburg 推断出呼吸酶的铁卟啉本质。
- 1929 Fiske 和 Subbarow 从肌肉提取物中分离出 ATP 和磷酸肌酸。
- 1930 Lundsgaard 证明肌肉不形成乳酸也可以收缩。
- 1930—1933 Northrop 分离出晶体的胃蛋白酶和胰蛋白酶并证明了它们的蛋白质本质。
- 1930—1935 Edsall 和 von Murralt 从肌肉中分离出肌凝蛋白。
- 1931 Engelhardt 发现磷酸化是和呼吸作用相偶联的。
- 1932 Lohmann 发现了 ATP-磷酸肌酸反应。
- 1932 Warburg 和 Christian 发现“黄酶”，一种黄素蛋白质。
- 1933 Keilin 分离出细胞色素 c 并且在粉碎心肌制备中重新构成电子传递。
- 1933 Krebs 和 Henseleit 发现尿素循环。
- 1933 Embden 还有 Meyerhof 确证了糖酵解和发酵化学途径中关键性的中间产物。
- 1935 Williams 及其同事推断出维生素 B₁ 的结构。
- 1935 Rose 发现了最后一个被认识的必需氨基酸——苏氨酸。
- 1935 Kuhn 发现核黄素(维生素 B₂)是“黄酶”的一个组分。
- 1935 Schoenheimer 和 Rittenberg 在研究糖类和脂类中间代谢时首先采用同位素作为标记物。
- 1935 Stanley 最先结晶了一种病毒——烟草花叶病毒。
- 1935 Szent-Györgyi 证明了二羧酸类在呼吸作用上的催化效应。
- 1935 Davson 与 Danielli 提出一种细胞膜结构的模型
- 1935—1936 Warburg 和 Euler 分离并测定了吡啶核苷酸的结构和作用。
- 1937 Krebs 提出了柠檬酸循环的设想。
- 1937 Lohmann 和 Schuster 证明硫胺素是丙酮酸羧化酶的辅基的一个组分。
- 1937—1938 Warburg 证明了 ATP 的形成是如何与 3-磷酸甘油醛脱氢作用偶联的。
- 1937—1941 Kalckar 和 Belitsky 各自独立地作出了氧化磷酸化的最先定量研究。
- 1937 C. Cori 和 G. Cori 开始了他们对糖原磷酸化酶锐敏的研究。
- 1938 Hill 发现在有电子受体存在下以光照射无细胞的叶绿体悬浮液获得了氧。
- 1938 Braunstein 和 Kitzmann 发现转氨反应。
- 1939 C. Cori 与 G. Cori 证实糖原磷酸化酶活性的可逆性。

- 1939--1941 Lipmann 提出在能量转移循环中 ATP 的重要作用的假定。
- 1939—1942 Engelhardt 和 Lyubimova 发现肌球蛋白的 ATP 酶活性。
- 1939—1946 Szent-Györgyi 发现肌动蛋白和肌动球蛋白。
- 1940 Beadle 和 Tatum 提出一个基因一个酶的假说。
- 1940—1943 Claude 从肝中分离出线粒体部分并研究了它。
- 1941—1944 Martin 与 Synge 创建了分配层析并运用于氨基酸分析。
- 1942 Bloch 和 Rittenberg 发现乙酸是胆固醇的前身物。
- 1943 A. Green 与 G. Cori 制成肌肉磷酸化酶的结晶体。
- 1943 Chance 首先将灵敏的分光光度法运用于酶与底物的相互作用上。
- 1943 Ochoa 验证了三羧酸循环中氧化磷酸化的 P:O 比率是 3.0。
- 1943—1947 Leloir 和 Munoz 确证了在无细胞的肝系统里的脂酸氧化作用； Lehninger 证明了脂酸氧化需要有 ATP 和脂酸氧化的化学计量。
- 1944 Avery, MacLeod 和 McCarty 证明了细菌变型是由 DNA 引起的。
- 1945 Brand 作了用化学和微生物学方法对一种蛋白质，即 β -乳球蛋白，进行第一次完全氨基酸分析的报告。
- 1947—1950 Lipmann 和 Kaplan 分离出辅酶 A 并描述了它的特征。
- 1948 Leloir 及其同事发现了尿苷酸在糖的代谢中的作用。
- 1948 Hogeboom, Schneider 和 Palade 改良了用于细胞分部过程的差示离析法。
- 1948 Calvin 和 Benson 发现磷酸甘油酸是光合二氧化碳固定作用中的早期中间产物。
- 1948—1950 Kennedy 和 Lehninger 发现三羧酸循环、脂酸氧化和氧化磷酸化都在线粒体内进行。
- 1949 Stein 与 Moore 作了用淀粉柱分配层析法作的 β -乳球蛋白的完全氨基酸分析的报告。
- 1949—1950 Sanger 为鉴定肽 N-末端建立了 2,4-二硝基氟苯法，以及 Edman 创建了苯异硫氰酸法。
- 1950 Pauling 与 Corey 提出 α -角蛋白的 α -螺旋结构。
- 1950—1953 Chargaff 及其同事发现 DNA 中碱基相当量。
- 1950—1965 在这一阶段里弄清了氨基酸、嘌呤、嘧啶、脂肪酸、复杂糖类和脂类，以及类萜化合物等的生物合成和降解酶促途径的主要步骤。很多研究人员对此作出了贡献，其中有 Ames, Baddiley, Bloch, Buchanan, Cantoni, Coon, B. D. Davis, D. E. Green, G. R. Greenberg, Gunsalus, Gurin, Handler, Hayaishi, Horecker, Kalckar, Kennedy, A. Karnberg, Lynen, Magasanik, Meister, Neubecger, Racker, Shermin, Sprinson, Strominger 和 Weinhause。
- 1951 Lehninger 证明电子从 NADH 传递到氧是氧化磷酸化的直接能源。
- 1951 Lynen 提出辅酶 A 在脂肪酸氧化中的作用。不久以后 Lynen, Green 和 Ochoa 分离出脂肪酸氧化的酶类。
- 1952—1953 Palade, Porter 和 Sjostrand 改善了用电子显微镜研究细胞内部结构所采用的薄切片和固定的方法。

- 1952—1954 Zamecnik 及其同事发现以后称为核糖体的核糖核蛋白粒，是蛋白质合成的部位。
- 1953 Sanger 与 Thompson 完成了胰岛素 A 链与 B 链氨基酸顺序的测定，两年后 Sanger 及其同事报告了二硫交联键的位置。
- 1953 duVigneaud 最先在实验室人工合成了肽类激素催产素和加压素。
- 1953 Horecker、Dickens 和 Racker 的工作阐明了葡萄糖分解代谢的 6-磷酸葡萄糖途径。
- 1953 Watson 和 Crick 提出 DNA 结构的双螺旋模型的假设。
- 1954 Arnon 及其同事发现光合磷酸化作用。
- 1954 Chance 与 Williams 运用氧电极和差示分光光度法研究线粒体内电子传递的动力学。
- 1954—1958 Kennedy 描述了三酰基甘油与磷酸甘油的生物合成途径和胞苷酸的功用。
- 1955 Benzer 绘出精细基因结构图并作出结论说基因有许多可变部位。
- 1955 Ochoa 和 Grunberg-Manago 发现多核苷酸磷酸化酶。
- 1956 A. Kornberg 发现 DNA 聚合酶。
- 1956 Umbarger 报告了终末产物异亮氨酸对从苏氨酸生物合成异亮氨酸的抑制。Yates 与 Pardee 报告了三磷酸胞苷对门冬氨酸转氨基甲酰酶的反馈抑制。
- 1956—1958 Anfinsen 与 White 作出结论认为蛋白质的三维构象是由它们的氨基酸顺序规定的。
- 1957 Vogel、Magasanik 和其他人描述了酶合成的基因阻遏。
- 1957 Sutherland 发现环腺苷酸。
- 1957 Hoagland、Zamecnik 和 Stephenson 分离出转移 RNA 并提出它的功用。
- 1957 Skou 发现 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ 激发的 ATP 酶，并提出它转运 Na^+ 和 K^+ 通过细胞膜的功用。
- 1958—1959 S. B. Weiss, Hurwitz 和其他人等发现 DNA 指导的 RNA 聚合酶。
- 1958 Crick 发表分子遗传学的中心法则。
- 1958 Meselson 与 Stahl 为 Watson-Crick 的 DNA 半保守复制模型提供实验证据。
- 1958 Stein, Moore 和 Spackman 描述了氨基酸自动分析仪，这种仪器大大促进了蛋白质分析工作。
- 1958 V. Ingram 证明正常的和镰状细胞的血红蛋白不同之处在于一条肽链上的一个氨基酸有差别。
- 1960 Hirs, Moore 和 Stein 测定了核糖核酸酶的氨基酸顺序；Anfinsen 作出了重要的独立的贡献。
- 1960 Kendrew 报告了抹香鲸的肌球蛋白结构的高分辨率 X 射线分析。
- 1961 Jacob, Monod 和 Chaugeux 提出变构酶的功用与活性的理论。
- 1961 Mitchell 提出关于氧化磷酸化与光合磷酸化机制的化学渗透假说。
- 1961 Jacob 与 Monod 提出操纵子假说并假定 mRNA 的功用。
- 1961 Nirenberg 与 Matthaei 报告多聚尿苷酸为多聚苯丙氨酸编码，并从而为鉴定

遗传密码开辟了道路。

- 1961--1965 Nirenberg, Khorana 和Ochoa 的实验室鉴定出各种氨基酸的遗传密码。
1961—1968 Racker 及其同事从线粒体分离出 F₁ ATP 酶，紧接着就在线粒体囊泡上重建氧化磷酸化作用。

【任邦哲 译 唐恢玲 校】

附录 II 生物化学研究文献中常用略语

A	腺嘌呤或腺苷
ACP	酰基载体蛋白
ACTH	促肾上腺皮质激素
ADH	醇脱氢酶
AMP, ADP, ATP	5'-一磷酸,二磷酸,三磷酸腺苷
cAMP	环腺苷酸
dAMP, dADP, dATP	5'-一磷酸,二磷酸,三磷酸-2'-脱氧腺苷
Ala	丙氨酸
Arg	精氨酸
Asn	门冬酰胺
Asp	门冬氨酸
ATPase	三磷酸腺苷酶 (ATP 酶)
C	胞嘧啶
CD	圆二色性
Cer	神经酰胺
CMP, CDP, CTP	胞苷一磷酸,二磷酸和三磷酸
CM-cellulose	羧甲基纤维素
CoA, CoA-SH, acyl-CoA, acyl-S-CoA	辅酶 A 及其酰衍生物
CoQ	辅酶 Q
Cys	半胱氨酸
DEAE-cellulose	二乙基氨基乙基纤维素
DFP(或 DIFP)	二异丙磷酰氟(或二异丙基氟磷酸)
DNA	脱氧核糖核酸
DNase	脱氧核糖核酸酶
DNP	2,4-二硝基苯酚
DOPA	二羟苯丙氨酸
DPN ⁺ , DPNH	与 NAD ⁺ , NADH 相同
E. C. (后附有数字)	(国际生物化学联合会)酶委员会, 其后所附数字表示酶的分类。
EDTA	乙二胺四乙酸
EPR	电子顺磁共振
ESR	电子自旋共振
ETP	电子传递粒子(线粒体膜的)
FA	脂肪酸

FAD, FADH ₂	黄素腺嘌呤二核苷酸及其还原型
FCCP	氯化羧 p-三氟甲氧苯腙
FDNB(DNFB)	氟二硝基苯
Fd	铁氧还素
FDP	1,6-二磷酸果糖
FH ₂ , FH ₄	二氢叶酸与四氢叶酸
fMet	N-甲酰蛋氨酸
FMN, FMNH ₂	黄素单核苷酸及其还原型
FP	黄素蛋白质
Fru	D-果糖
G	鸟嘌呤或鸟苷
Gal	D-半乳糖
GalNAc	N-乙酰 D-氨基半乳糖
GDH	谷氨酸脱氢酶
GH	生长激素
GLC	气-液层析
Glc	D-葡萄糖
GlcNAc	N-乙酰 D-氨基葡萄糖
Gln	谷氨酰胺
Glu	谷氨酸
Gly	甘氨酸
cGMP	环鸟苷酸
GMP, GDP, GTP	鸟苷一磷酸, 二磷酸, 三磷酸
G3P	甘油醛-3-磷酸(3-磷酸甘油醛)
G6P	葡萄糖-6-磷酸
GSH, GSSG	谷胱甘肽及其氧化型
Hb, HbO ₂ , HbCO	血红蛋白, 氧合血红蛋白, 一氧化碳血红蛋白
His	组氨酸
hnRNA	核不均一 RNA
Hyp	羟脯氨酸
IgG	免疫球蛋白 G
Ile	异亮氨酸
IMP、IDP、ITP	次黄嘌呤核苷一磷酸, 二磷酸和三磷酸
LDH	乳酸脱氢酶
Leu	亮氨酸
LH	促黄体激素
Lys	赖氨酸
Mb, MbO ₂	肌红蛋白, 氧合肌红蛋白
MDH	苹果酸脱氢酶

MtDNA	线粒体 DNA
Met	蛋氨酸
MetHb	高铁血红蛋白
MSH	促黑素细胞激素
NAD ⁺ , NADH	尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(二磷酸吡啶核苷酸)及其还原型
NADP ⁺ , NADPH	尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(三磷酸吡啶核苷酸)及其还原型
NAN, NANA	N-乙酰神经氨酸
NEFA	非酯化脂肪酸
NMN ⁺ , NMNH	尼克酰胺一核苷酸及其还原型
NMR	核磁共振
OAA	草酰乙酸
OD	光密度
ORD	旋光色散
P _i	无机磷酸
PAB 或 PABA	对-氨基苯甲酸
PEP	磷酸烯醇式丙酮酸
3PG	3-磷酸甘油酸
PGA	蝶酰谷氨酸(叶酸)
Phe	苯丙氨酸
PMS	吩嗪硫酸甲酯
PP _i	无机焦磷酸
ppGpp	鸟苷 5'-二磷酸 3'-二磷酸胞氨酸
Pro	
PRPP	5-磷酸- α -D-核糖 1-焦磷酸
Rib	D-核糖
RNA	核糖核酸
mRNA	信使核糖核酸
nRNA	核核糖核酸
rRNA	核糖体核糖核酸
tRNA	转移核糖核酸
RNase	核糖核酸酶
RQ	呼吸商
Ser	丝氨酸
T	胸嘧啶或胸苷
TH	促甲状腺(激)素
Thr	苏氨酸
TLC	薄板层析
TPCK	L-1-甲苯磺酰-2-苯乙基-氯甲基酮
TPN ⁺ , TPNH	与 NADP ⁺ , NADPH 相同

TPP	硫胺素焦磷酸
Tris	三(羟甲基)氨基甲烷(一种缓冲成分)
Trp	色氨酸
Tyr	酪氨酸
U	尿嘧啶或尿苷
UDP-gal	尿苷二磷酸半乳糖
UDP-glc	尿苷二磷酸葡萄糖
UFA	未酯化的脂肪酸
UMP, UDP, UTP	尿苷一磷酸, 二磷酸和三磷酸
UV	紫外线
Val	缬氨酸

【任邦哲译 唐恢玲校】

附录 III 单位符号、词头和物理常数

A	安培	μmol	微克分子
\AA	埃	M	克分子浓度
atm	大气压	m	重量克分子浓度
cal	卡	m	米
Ci	居里	mg	毫克
cm	厘米	min	分钟
dm	分米	ml	毫升
\mathcal{F}	法拉第	mm	毫米
g	克	mmHg	毫米汞柱
G	高斯	mmH₂O	毫米水柱
h	小时	mol	克分子
kat	卡达	mol wt	分子重量
kcal	千卡	N	当量浓度
kJ	千焦耳	nm	毫微米
K	开文(Kelvin)	pH	氢离子浓度负对数
	立升	pK'	$-\log K'$
In	对数(e为底)	ps	微微秒
log	对数(10为底)	r	转
μm	微米	S	沉降系数单位
Sf	浮力系数单位		
STP	标准温度与压力		
s	秒		
V	伏特		

国际单位用词头			某些物理常数	
系数	词头	符号	符号	值
10^{12}	垓	T	亚弗加德罗数	$6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
10^9	京	G	居里	$3.7 \times 10^{10} \text{ 裂变 s}^{-1}$
10^6	兆	M	道尔顿	$1.661 \times 10^{-24} \text{ g}$
10^3	千	k	法拉第常数	$96,487 \text{ C mol}^{-1}$ $23,062 \text{ Cal V}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
10^2	百	h	气体常数	$8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ $1.987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
10^{-1}	分	d	勃朗克常数	$6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$ $1.584 \times 10^{-34} \text{ cal s}$
10^{-2}	厘	c	光速(真空)	$2.997 \times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$
10^{-3}	毫	m	其它常数与因素	
10^{-4}	微	μ	$\pi = 3.1416$	
10^{-9}	纤	n	$e = 2.718$	
10^{-12}	沙	p	$\ln(\log e)X = 2.303 \log_{10} X$	
10^{-15}	尘	f	$1.0 \text{ J} = 0.239 \text{ cal} = 10^7 \text{ erg} = 1 \text{ W s}$	
10^{-18}	渺	a		

[任邦哲译 唐恢玲校]

附录 IV / 习题答案

第二章

1. (a) 5.0; (b) 2.30; (c) 8.48; (d) 7.0; (e) 10.48; (f) 1.85
2. (a) $4.0 \times 10^{-8}M$; (b) $8.0 \times 10^{-7}M$; (c) $2.0 \times 10^{-10}M$; (d) $4.0 \times 10^{-2}M$; (e) $3.2 \times 10^{-9}M$; (f) $3.2 \times 10^{-8}M$
3. (a) 2.51×10^{-6} ; (b) 5.60
4. (a) 0.0132; (b) 0.0417
5. (a) 0.0171; (b) 0.148; (c) 0.500
7. (a) $1.35 \times 10^{-5}M$; (b) 4.87
8. (a) 4.3×10^3 ; (b) 1.58; (c) 磷酸盐
9. 2.5
10. (a) 1.28 毫升; (b) $10^{-5}M$
11. (a) 2.89; (b) $6.31 \times 10^{-11}M$
12. $[A^{2-}] \approx k'_2$
13. (a) 加 22.43 毫升 0.1 N NaOH 至 27.57 毫升 0.1 N 醋酸中; (b) 5.30
14. (a) 3.38; (b) 3.47
15. (a) 4.38; (b) 5.02
16. 8.38
17. (a) 3.26; (b) $6.13 \times 10^{-4}M$
18. (a) $4.78 \times 10^{-5}M$; (b) $3.55 \times 10^{-3}M$; (c) $6.16 \times 10^{-3}M$; (d) $2.45 \times 10^{-4}M$

第四章

1. 门冬酰胺/谷氨酰胺
2. 鸟氨酸
3. 甘氨酸 5.97; 丙氨酸 6.02; 丝氨酸 5.68; 苏氨酸 6.53; 谷氨酸 3.22
4. 甘氨酸: (a) +; (b) +; (c) +; (d) -
门冬氨酸: (a) +; (b) +; (c) -; (d) -
赖氨酸: (a) +; (b) +; (c) -; (d) 0/-
组氨酸: (a) +; (b) +; (c) +; (d) -
5. (a) 谷; (b) 赖, 精; (c) 甘, 丙, 丝
6. 精, 赖, 酪, 谷, 门冬
7. 异亮, 丙, 丝, 谷
8. 0.38 克
9. (a) 2.71; (b) 9.23
10. 4.45

11. 0.45°
12. (a) $0.152M$; (b) $0.182M$
13. 0.64 毫克甘氨酸; 0.11 毫克苯丙氨酸
14. (a) 管 4, 管 3; (b) 管 1, 0.8 毫克 X, 6.4 毫克 Y; 管 2, 9.6 毫克 X, 28.8 毫克 Y; 管 3, 38.4 毫克 X, 43.2 毫克 Y; 管 4, 51.2 毫克 X, 21.6 毫克 Y
15. (a) 1.44 毫克; (b) 6.09×10^{-3} 毫克
16. (a) 3.50 毫克; (b) $0.0748M$
17. (a) $0.0843M$; (b) $0.0079M$; (c) 8

第五章

1. (a) (1) 赖-门冬-甘-丙-丙-谷-丝-甘
 (2) 丙-丙-组-精, 谷-赖, 苯丙-异亮
 (3) 酪-半胱-赖, 丙-精, 精, 甘
 (4) 苯丙-丙-谷-丝-丙-甘
 (b) (1) 2,4-DNP-赖; 2,4-DNP-门冬
 (2) 2,4-DNA-丙; 2,4-DNP-谷; 2,4-DNP-苯丙
 (3) 2,4-DNP-酪; 2,4-DNP-丙; 2,4-DNP-精; 2,4-DNP-甘
 (4) 2,4-DNP-苯丙
2. (a) 缬-丙-赖-谷-谷-苯丙, 缬-蛋-酪, 半胱-谷-色, 蛋-甘-甘-苯丙
 (b) 缬-丙-赖-谷-谷-苯丙, 缬-同型丝氨酸内酯, 酪, 半胱-谷-色, 同型丝氨酸内酯, 甘-甘-苯丙
3. (a) 亮-蛋-组-酪-赖, 精, 丝-缬-半胱-丙-赖, 门冬-甘-异亮-苯丙-异亮
 (b) 亮-蛋-组-酪-赖, 精, 丝, 缬-半胱-丙-赖, 门冬-甘, 异亮-苯丙-异亮
4. (a) 糜蛋白酶及嗜热菌蛋白酶消化
 (b) 糜蛋白酶; 甘-亮-丝-脯-苯丙, 组-丝-门冬-缬-丝-丙-丙-色, 甘-谷-缬-甘-丙-组-亮-甘-谷-酪, 甘-丙-谷-丙-苏-谷; 嗜热菌蛋白酶; 甘, 亮-丝-脯-苯丙-组-苏-门冬, 缬-丝-丙-丙-色-甘-谷, 缬-甘-丙-组, 亮-甘-谷-酪-甘-丙-谷-丙-苏-谷
5. 缬-(精-赖)-脯-甘
6. (a) C, C, C, A; (b) C, C, O, A; (c) C, C, O/A, A;
 (d) C, O/C, A, A; (e) C, C, C, A
7. $a \approx e, b, c, d$
8. 向阳极迁移率的变化: (a) 减慢; (b) 增加; (c) 减慢; (d) 增加; (e) 减慢
9. 甘-异亮-缬-谷-谷-半胱-半胱-丙-丝-缬-半胱-丝-亮-酪-谷-亮-谷-门冬-酪-半胱-门冬
10. 没有单一种肽可满足所有的条件。门冬-丙-酪-谷-赖-组-异亮-谷-缬及门冬-丙-酪-谷-赖-谷-异亮-组-缬这两种肽的混合物则可以。
11. 谷胺-色-赖-色-谷
12. 色-甘-精-色-甘-精

第六章

1. (a) 15.8 毫微米; (b) 37.9 毫微米
2. (a) 1—6; 8—15; 20—28 (b) 7; 16—19; (c) 13; 24
3. (a) $3,846/10^6$ 个残基; (b) 1.8
4. 51%

第七章

1. 13,110
2. 13,700
3. (a) $3,846/10^6$ 个残基; (b) 1.8
4. 51%
5. 494,000
6. (a) A; (b) C, A; (c) C, O, A
7. (a) 5.85; (b) 8.25; (c) 4.90
8. 肌球蛋白, 过氧化氢酶, 血清清蛋白, 糜蛋白酶原, 肌红蛋白, 细胞色素 c
9. 52,000

第八章

1. 0.089 mM
2. 1.5
3. (a) 2.31s^{-1} ; (b) 1.30 s
4. 0.0031s^{-1}
5. $[s] = 4K_m$
7. 29,200
8. $1.86 \times 10^{-6}\text{M}$
9. (a) 非竞争性的; 两个 K_i 值相等; (b) 2.44 mM; (c) 24.8 mM
10. (a) 竞争性的; (b) 5.4 mM; (c) 9.0 mM
11. (a) 反竞争性的, (b) $1.26\mu\text{M}$
12. (a) $\frac{1}{V_{\max}} \left[K_M^B + \frac{K_S^A K_M^B}{[A]} \right]$; (b) $\frac{1}{V_{\max}} \left[1 + \frac{K_M^B}{[B]} \right]$
(c) $\frac{-K_M^A}{K_S^A K_M^B}$; (d) $\frac{1}{V_{\max}} \left[1 - \frac{K_M^A}{K_S^A} \right]$
13. 双置换
14. 依次单置换, NAD[H] 在前
15. 随机单置换

第十章

1. (a) 93.3° ; (b) 52.7° ; (c) $62.4^\circ, 62.4^\circ$

2. (a) 戊乙酰- α -D-半乳糖; (b) 2, 3, 4, 6-四氧甲基- α -D-葡萄糖; 2, 3, 4, 6-四
氧甲基- β -D-葡萄糖

3. (a) D-半乳糖醇; (b) L-甘露聚糖酸; (c) 1, 3, 4, 6-四氧甲基-N-二甲基
n-半乳糖胺

4. (a) 2, 3, 4, 6-四氧甲基-D-半乳糖; 2, 3, 6-三氧甲基-D-葡萄糖; (b) 2, 3,
4, 6-四氧甲基-D-葡萄糖; 1, 3, 4, 6-四氧-甲基-D-果糖

5. 4-氧-D-葡萄糖基-6-氧-D-半乳糖基-D-葡萄糖, 或 6-氧-D-葡萄糖基-4-氧-D-葡萄
糖基-D-半乳糖。

6. (6-氧-D-葡萄糖基-4-氧-D-葡萄糖基)单位的未分支多聚体

7. (a) 9.72%; (b) 10.3 个葡萄糖残基; (c) 49.7 毫克分子; (d) 12,300 个葡
萄糖残基

8. 820 个葡萄糖残基

第十一章

1. OPS, POS, OSP, SPO, SOP, PSO

2. (a) PPP, OOO, SSS, PPO, PPS, OOP, OOS, SSP, SPO, SSO, POP, PSP, OSO,
SPS, SOS, OPO, POS, PSO, OPP, SPP, POO, SOO, PSS, OPS, OSS, SOP, OSP; (b)
18

3. 假定全部是饱和的, 每一脂肪酸平均含 16.7 个碳原子

4. 磷脂酸; 它是两性的, 而且在水中形成稳定的微团; 三酰基甘油酯则否

5. (a) A; (b) A; (c) O; (d) A; (e) C

6. (a) 甘油, 硬脂酸钠, 软脂酸钠

(b) 甘油 3-磷酸肌醇, 硬脂酸钠, 反油酸钠

(c) 甘油 3-磷酸胆碱, 软脂酸钠, 油酸钠

7. (a) 硬脂酸, 油酸, 甘油, 磷酸, 丝氨酸

(b) 1-软脂酰-2-亚油酰磷脂酸, 胆碱

8. (a) 1.13 克/厘米³ (b) 沉积物

9. 脂类/蛋白质的克分子比 = 41.7

第十二章

1. (a) 0.493; (b) 0.356; (c) 0.0594; (d) 1.037

2. (a) $2.78 \times 10^{-5} M$; (b) $9.78 \times 10^{-6} M$

3. AMP = $3.43 \times 10^{-5} M$; GMP = $1.06 \times 10^{-5} M$

4. (a) A; pU; pA; pA; pC; pU; (b) AU; AAC; U

(c) 无效应; (d) 一种无嘌呤核酸, 其结构为: (5')T-C-C-(3'), 加两分子游离
碱——腺嘌呤及鸟嘌呤

(e) 无效应

5. pGpCpCpApUpCpGpApC

6. ApUpCpApGpCpCpGpUpCpGpGp

7. (a) $1.77 \times 10^{-5} M$; (b) $1.30 \times 10^{-5} M$; (c) $8.00 \times 10^{-6} M$; (d) $1.41 \times 10^{-3} M$

第十四章

1. $t_{1/2} = 0.693/\lambda$
2. 1.07×10^6
3. 32.6 小时
4. 376 天
5. 28.7%P; 71.3%S
6. 1.46 毫克/毫升
7. 1,163 毫升

第十五章

1. (a) 10.1%; (b) 11.6%
2. -275.68 千卡/克分子
3. (a) 263; (b) 311
4. (a) -1.13 千卡/克分子; (b) +19.4 千卡/克分子
(c) +11.1 千卡/克分子; (d) +16.5 千卡/克分子
5. (a) -7.30 千卡/克分子; (b) -8.66 千卡/克分子
(c) -10.0 千卡/克分子; (d) -11.4 千卡/克分子
6. -12.3 千卡/克分子
7. -1.3 千卡/克分子
8. $3.55 \times 10^{-3} M$
9. (a) $[PEP] = [ADP] = 0.0178 mM$
 $[Pyr] = [ATP] = 9.9822 mM$
(b) $[PEP] = [ADP] = 0.0151 mM$
 $[Pyr] = 5.98 mM; [ATP] = 11.98 mM$
10. 1.26 mM
11. (a) $[ADP] = 0.991 mM, [AMP] = 0.0009 mM$
(b) +3.344%

第十六章

1. (a) -; (b) -; (c) +; (d) +; (e) +; (f) -; (g) -; (h) -;
(i) +
2. (a) 及 (b): D-果糖 + 2ADP + 2P_i → 2 乳酸 + 2ATP + 2H₂O
3. (a) 甘油 + NAD⁺ + ADP + P_i → 乳酸 + NADH + H⁺ + ATP + H₂O
(b) L-3-磷酸甘油 + NAD⁺ + 2ADP + P_i → 乙醇 + CO₂ + NADH + H⁺
+ 2ATP + H₂O
- (c) D-甘露糖 + 2NAD⁺ + 2P_i → 2 磷酸烯醇式丙酮酸
+ 2NADH + 2H⁺ + 2H₂O

- (d) 蔗糖 + 5ADP + 5P_i → 4乙醇 + 4CO₂ + 5ATP + 4H₂O
 (e) 甘油醛 + P_i + ADP → 乙醇 + CO₂ + ATP + H₂O
4. 1,6-二磷酸果糖 + 2NAD⁺ → 2 磷酸烯醇式丙酮酸 + 2NADH + 2H⁺
 5. 190mM 葡萄糖, 20 mM 乙醇; 至少增加磷酸到 380mM
 6. 1,6-二磷酸果糖, 磷酸二羟丙酮, D-3-磷酸甘油醛, D-甘油醛, 1-磷酸果糖, 乙醛,
 5-脱氧戊酮糖
7. (a) -25.84 千卡/克分子; (b) -21.68 千卡/克分子
 8. -0.354 千卡/克分子
 9. (a) 0.79%; (b) 2.48%; (c) 7.63%; (d) 22.1%; (e) 53.9%
 10. -1.93 千卡/克分子
 11. (a) 0.30; (b) 1.50; (c) 5.10; (d) 7.58; (e) 11.3

第十七章

1. (a) 2; (b) 1; (c) 3; (d) 2
 2. (a) 碳原子 1,2 及 3; (b) 碳原子 2; (c) 碳原子 2 及 3
 3. (a) (1) HOOC—¹⁴CH₂—CH(COOH)CH(OH)—COOH
 (2) 碳原子 4, (3) 碳原子 2
 (b) (1) 于标志[*]的碳原子: HOOC—*CH₂—CH(*COOH)CH(OH)*COOH,
 (2) 碳原子 1 和 4; (3) 碳原子 2
 (c) (1) 于标志(*)的碳原子: HOOC—CH₂—CH(*COOH)CH(OH)*COOH
 (2) 1-¹⁴C-α-酮戊二酸; (3) 未标志; (4) 碳原子 1 和 4
 (d) (1) 于标志(*)的碳原子: HOO*C—CH₂—*CH(COOH)*CH(OH)COOH,
 (2) 碳原子 1, 2, 3, 及 4
 4. (a) 0; (b) 1/2; (c) 1/2
 5. (a) 0; (b) 0; (c) 1/2; (d) 1/4; (e) 1/8
 6. (a) 柠檬酸 + 2 NAD⁺ + GDP + P → 琥珀酸 + 2 CO₂ + 2NADH + 2H⁺
 + GTP
 (b) 2 丙酮酸 + 2H₂O + 3NAD⁺ + GDP + ATP → 琥珀酸 + 2CO₂
 + 3NADH + 3H⁺ + GTP + ADP
 (c) 延胡索酸 + 乙酰 CoA + 2H₂O + 3NAD⁺ + GDP + P_i →
 琥珀酸 + CoA + 2CO₂ + 3NADH + 3H⁺ + GTP
 7. (a) 及 (b) 与题(6)相同
 (c) 2 延胡索酸 + 2H₂O + 5NAD⁺ + ADP + GDP + 2P_i → 琥珀酸
 + 4 CO₂ + 5NADH + 5H⁺ + ATP + GTP
 8. 葡萄糖 + ATP + 2NADP⁺ + H₂O → 5-磷酸核糖 + ADP
 + 2NADPH + 2H⁺ + CO₂; 碳原子 2
 9. 5 葡萄糖-6-磷酸 + 3ATP + 2H₂O → 6核糖-5-磷酸 + 3 ADP + 2P_i
 10. 葡萄糖 + 6NADP⁺ + NAD⁺ + 2H₂O + ADP + P_i → 丙酮酸
 + 3CO₂ + 6NADPH + NADH + 7H⁺ + ATP

11. 6 核糖-5-磷酸 + 16ADP + 10P_i → 10 乳酸 + 16ATP + 10H₂O; 3-¹⁴C-乳酸,
1,3-¹⁴C-乳酸

12. -0.6 千卡/克分子; K' = 2.75M

13. 2.74 + 10⁻⁸M

第十八章

1. (a) -0.35V; (b) -0.32V; (c) -0.29V

2. a, d, e, b, c

3. d, a, b, c

4. b, c, d

5. (a) -2767 卡/克分子; (b) -12.45 千卡/克分子 (c) +7.10 千卡/克分子;
(d) -25.60 千卡/克分子

6. (a) 6.2μM (b) 22.5M

7. OAA = NADH = 0.0497mM, NAD = 苹果酸 = 19.95 mM

8. OAA = 0.0114mM, 苹果酸 = 19.99 mM

9. (a) +1.38 千卡/克分子; (b) +16.14 千卡/克分子

10. 24-羟胆钙化醇 + NAD(P)H + H⁺ + O₂ → 1,24-二羟胆钙化醇
+ H₂O + NAD(P)⁺

11. B

12. (a) 直线在纵轴的左边相交

(b) 它们应该是相互竞争

13. (a) NAD 及 NADH 脱氢酶被还原; 细胞色素 b, c₁, a 被氧化; (b) NAD, NADH 脱氢酶及细胞色素 b 被还原; 细胞色素 c, a 被氧化; (c) 全部被还原。

第十九章

1. NADH + H⁺ + $\frac{1}{2}$ O₂ + 2ADP + 2P_i → NAD⁺ + 3H₂O + 2ATP

2. NADH + H⁺ + $\frac{1}{2}$ O₂ + 3ADP + 3P_i → NAD⁺ + 4H₂O + 3ATP

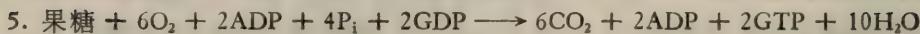
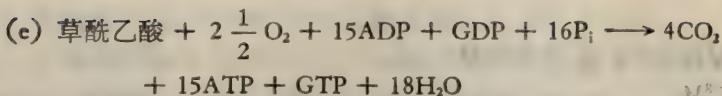
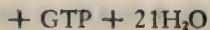
3. (a) 3.5; (b) 1.0; (c) 2.5; (d) 1.0

4. (a) 甘油醛 + 3O₂ + 17ADP + GDP + 18P_i → 3CO₂ + 17ATP + GTP
+ 21H₂O

(b) 丙酮酸 + 2 $\frac{1}{2}$ O₂ + 14ADP + GDP + 15P_i → 3CO₂ + 14ATP
+ GTP + 17H₂O

(c) 柠檬酸 + 4 $\frac{1}{2}$ O₂ + 26ADP + 2GDP + 28P_i → 6CO₂ + 26ATP
+ 2GTP + 32H₂O

(d) 延胡索酸 + 3O₂ + 18ADP + GDP + 19P_i → 4CO₂ + 18ATP



6. 40.1%

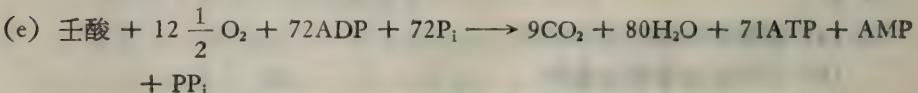
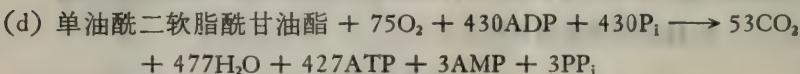
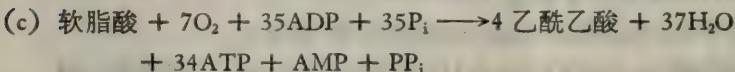
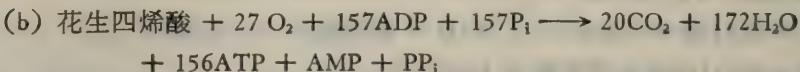
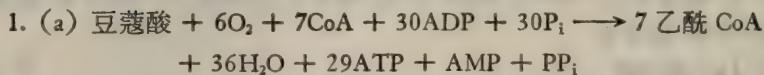
7. 40.4%

8. 有氧条件下：磷酸化作用电位 = 3.50；能荷 = 0.91

无氧条件下：磷酸化作用电位 = 0.54；能荷 = 0.83

章八十一

第二十章



2. (a) 碳原子 1；(b) 碳原子 1 及 4；(c) 碳原子 1

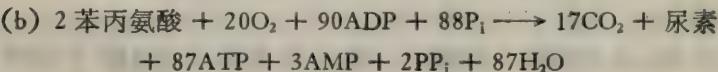
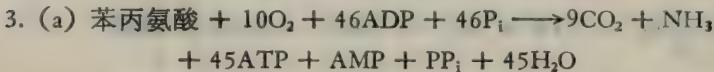
3. 碳原子 1、3 及 5

第二十一章

章六十二

1. (a) 亮氨酸；(b) 异戊酰-CoA 脱氢酶

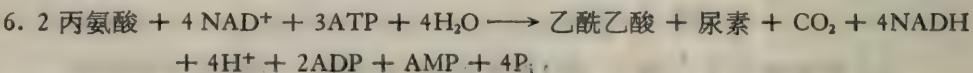
2. (a) +8.76 千卡/克分子；(b) -6.00 千卡/克分子



4. (a) 45 分子；(b) 26.5 分子

5. (1) 氨基氮；(2) 未标记；(3) 未标记；(5) α -碳原子 (6) β -碳原子；

(8) γ -羧基碳原子



7. (a) γ -羧基碳原子；(b) γ -羧基碳原子；(c) 碳原子 2 或 3

8. 22.4%

9. 葡萄糖: 6.33 ATP/碳原子；丁酸: 7.00；丙氨酸: 6.00

10. (a) 直线在纵轴的左侧相交； (b) 平行线

第二十二章

1. -20.76 千卡/克分子
2. 35.2%
3. (a) 20.0%； (b) 37.5%

第二十三章

1. (a) $2\text{ 柠檬酸} + 4\text{NAD}^+ + 2\text{FAD} + 2\text{ATP} + 6\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{葡萄糖} + 6\text{CO}_2 + 4\text{NADH} + 4\text{H}^+ + 2\text{FADH}_2 + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i$
- (b) $2\text{ 苯丙氨酸} + 7\text{O}_2 + 2\text{NADH} + 2\text{NADPH} + 4\text{H}^+ + 2\text{FAD} + 2\text{GTP} + 2\text{ATP} + 6\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{葡萄糖} + 2\text{乙酰乙酸} + 4\text{CO}_2 + 2\text{NH}_3 + 2\text{NADP}^+ + 2\text{NAD}^+ + 2\text{FADH}_2 + 2\text{GDP} + 2\text{ADP} + 4\text{P}_i$
- (c) $\text{软脂酸} + 11\text{NAD}^+ + 11\text{FAD} + 5\text{ATP} + 4\text{GTP} + 27\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2\text{葡萄糖} + 4\text{CO}_2 + 11\text{NADH} + 11\text{H}^+ + 11\text{FADH}_2 + 4\text{ADP} + \text{AMP} + 4\text{GDP} + \text{PP}_i + 8\text{P}_i$
- (d) $4\text{ 亮氨酸} + 18\text{NAD}^+ + 6\text{FAD} + 10\text{ATP} + 6\text{GTP} + 38\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 3\text{葡萄糖} + 4\text{NH}_3 + 6\text{CO}_2 + 18\text{NADH} + 18\text{H}^+ + 6\text{FADH}_2 + 6\text{ADP} + 6\text{GDP} + 4\text{AMP} + 4\text{PP}_i + 12\text{P}_i$
2. 碳原子 1 及 6; 碳原子 2、4、6、8、10、12、14 及 16
3. 2 丙酮酸 $+ 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 4\text{ATP} + 2\text{GTP} + \text{UTP} + 6\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{葡萄糖} + 2\text{NAD}^+ + 4\text{ADP} + 2\text{GDP} + \text{UDP} + 7\text{P}_i$
8 个高能磷酸键
4. 2 丙酮酸 $+ \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{NAD}^+ + 4\text{ATP} + 2\text{GTP} + \text{UTP} \longrightarrow \text{抗坏血酸} + \text{NADP}^+ + \text{NADH} + \text{H}^+ + 4\text{ADP} + 2\text{GDP} + \text{UDP} + 7\text{P}_i$
5. (1) 碳原子 3 及 4; (2) 碳原子 3、4 及 5; (3) 碳原子 1、2 及 3

第二十四章

1. $9\text{ 乙酰-S-CoA} + 16\text{NADPH} + 16\text{H}^+ + 8\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{硬脂酸} + 16\text{NADP}^+ + 9\text{CoASH} + 8\text{ADP} + 8\text{P}_i$
2. $8\text{ 丙酮酸} + 12\text{NADPH} + 4\text{H}^+ + 7\text{ATP} + 8\text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{棕榈油酸} + 12\text{NADP}^+ + 7\text{ADP} + 7\text{P}_i + 8\text{CO}_2 + 8\text{NADH}$
3. $\text{月桂酸} + 3\text{乙酰-S-CoA} + 6\text{NADPH} + 6\text{H}^+ + 4\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{硬脂酸} + 6\text{NADP}^+ + 3\text{CoASH} + 4\text{ADP} + 4\text{P}_i$
4. $12\frac{1}{2}\text{葡萄糖} + 42\text{NADPH} + 42\text{H}^+ + 48\text{NAD}^+ + \text{FADH}_2 + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i \longrightarrow \text{三软脂酸甘油酯} + 24\text{CO}_2 + 42\text{NADP}^+ + 48\text{NADH} + 48\text{H}^+ + \text{FAD} + 2\text{ATP} + 23\text{H}_2\text{O}$
5. 6 个高能磷酸键

6. 12 个高能磷酸键

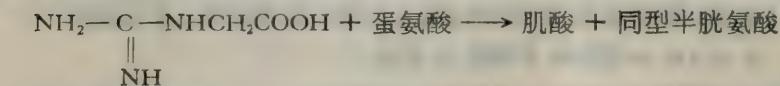
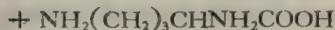
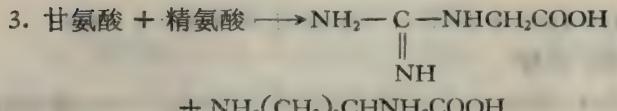
7. 18 乙酸 + 4O₂ + 12NADPH + 12H⁺ + 36ATP + 9H₂O → 胆固醇
+ 9CO₂ + 12NADP⁺ + 18ADP + 18AMP + 18PP_i + 18P_i; 36 个高能磷酸键

8. 葡萄糖的每一碳原子含 0.5; 每一碳原子生成 0.062 个高能磷酸键。(以软脂酸形式贮存)

第二十五章

第三十二

1. 琥珀酸 + FH₄ + 2NAD⁺ + NAD(P)H + H⁺ + FAD + NH₃ + GTP
+ H₂O → 甘氨酸 + CO₂ + N⁵N¹⁰ 亚甲基 FH₄ + 2NADH
+ 2H⁺ + 2H⁺ + NAD(P)⁺ + FADH₂ + GDP + P_i
2. 异柠檬酸 + NAD⁺ + NAD(P)H + H⁺ + FAD + NH₃ + 2ATP + GDP
+ H₂O → 苏氨酸 + 2CO₂ + NADH₂ + NAD(P)⁺ + FADH₂
+ 2ADP + P_i + GTP



4. 5 个高能磷酸键

5. 丝氨酸 → 乙醇胺 + CO₂

乙醇胺 + 3S-腺苷蛋氨酸 → 胆碱 + 3 同型半胱氨酸 + 3 蛋氨酸

6. 组氨酸环中碳原子 4

7. 10CO₂ + 2 硝酸盐 + 31 NADPH + 31H⁺ + 4NAD⁺ + 34ATP
+ 16H₂O → 2 谷氨酸盐 + 31 NADP⁺ + 4NADH + 4H⁺
+ 34ADP + 34P_i

8. α-酮戊二酸 + NH₃ + 3NAD(P)H + 3H⁺ → 脯氨酸
+ 3NAD(P)⁺ + 3H₂O; α 碳原子

9. α-酮异戊酸 + [CH₂] $\xrightarrow{\text{对氨基苯甲酸}}$ α-酮泛解酸; α-酮泛解酸 + NAD(P)H
+ H⁺ → 泛解酸 + NADP⁺; 门冬氨酸 → β-丙氨酸
+ CO₂; 泛解酸 + β-丙氨酸 → 泛酸

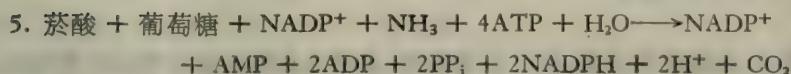
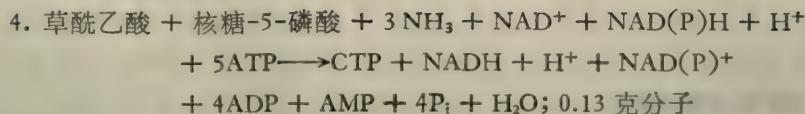
10. 2 个高能磷酸键; (a) 无; (b) 碳原子 2

第二十六章

1. (a) 嘧啶环的碳原子 4; (b) 嘧啶环的碳原子 4 及核糖的碳原子 2; (c) 嘧啶环的碳原子 5; (d) 嘧啶环的氮原子 1 及氨基氮原子; (e) 嘧啶环的氮原子 3 及 9

2. (a) 嘧啶环的碳原子 6; (b) 氮原子 1 及 3 与氨基氮; (c) 氮原子 1 及 3 与氨基氮

3. 6个高能磷酸键



6. 人: (a) 尿酸氮原子 3; (b) 尿酸碳原子 5; (c) 尿素氮原子

龟: (a) 尿囊素的侧链-NH; (b) 尿囊素的环羰基碳; (c) 氨氮原子

两栖类: (a) 尿素氮原子; (b) 乙醛酸羧基碳; (c) 尿素氮原子

第二十七章

1. 139.0 卡

2. 188 s

3. (a) 4.9 升; (b) 8.67 毫克分子; (c) 无; (d) 36.3 毫克分子

4. 1.9 + 10⁻⁶ 克分子/克肌肉/分钟

5. 7.22 × 10⁻⁵ 克分子/克肌肉/分钟

6. 1.41 × 10⁻³ 克分子/克肌肉/分钟

7. K' = 1.66 × 10²

8. 对磷酸肌酸 + ADP → ATP + 肌酸: (a) -0.63 千卡/克分子; (b) -0.64 千卡/克分子

第二十八章

1. 2.21 千卡/(克离子)

2. 2.24 × 10⁵/升

3. (a) 51.6 微克当量/h/毫克; (b) 57K⁺ 离子

4. 9 个 Na⁺ 离子

5. 0.5%

6. pH 梯度 5.35, 8.65

第三十章

1. (a) 1.0; (b) 1.33; (c) 0.90; (d) 0.693; (e) 0.857; (f) 0.703

2. 乙醇 + 3O₂ + 18ADP + 18P_i → 2CO₂ + 21H₂O + 17ATP + AMP + PP_i

3. (a) 6.33; (b) 8.50; (c) 8.13; (d) 8.08; (e) 6.66; (f) 5.00

4. (a) 软脂酸 + 5O₂ + 23ADP + 23P_i → 4β-羟丁酸 + 22ATP
+ 22H₂O + AMP + PP_i

(b) β-羟丁酸 + 4 $\frac{1}{2}$ O₂ + 27ADP + 27P_i → 4CO₂ + 31H₂O

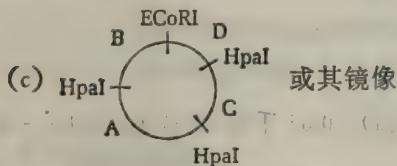
+ 26ATP + AMP + PP_i

5. 直接的 130ATP; 通过 β-羟丁酸, 126 ATP

6. —3ATP

第三十一章

1. $2.21 + 10^6$ 道尔顿/微米
2. 2, 940
3. 如有也很少; 碱基比值表明, M13 是单股的, 虽然也许有碱基对形成的发夹区。
4. 590/升
5. (a) 30.6 毫微米, 6.03×10^4 道尔顿; (b) 106 毫微米, 2.09×10^5 道尔顿
(c) 1840nm, 3.62×10^6 道尔顿
6. (1) (a) 1.748 克/厘米³; (b) 1.710 克/厘米³; (c) 1.672 克/厘米³
(2) (a) 107°C; (b) 90.5°C; (c) 74.5°C
(3) (a) 50%; (b) 63%; (c) 77%
7. 4.07×10^6
8. (a) 12.2; 2.32×10^9 密耳; (b) 7.20 厘米³
9. (a) 双股环; (b) A = 1.3×10^6 ; B = 0.8×10^6 ; C = 0.7×10^6 ; D = 0.6×10^6 ;



(d) 缺失 160 个核苷酸, 包括 A 及 B 段之间的 HpaI 断裂部位。

第三十二章

1. (a) 2.220 核苷酸/秒; (b) 133 倍
2. 0.141 s
3. A 21%; G 29%; C 29%; U 21%
4. G 21.3%; C 21.3%; A 28.7%; T 28.7%
5. (a) 1.6×10^7 ATP; (b) 4.44×10^5 ; (c) 8×10^6
6. 1.5×10^8 ATP; (b) 9.38 倍
7. 最邻近碱基的频率分析: 平行链, TpC = ApG, TpG = ApC, CpT = GpA 等; 反平行链, TpC = GpA, TpG = CpA, CpT = ApG 等。
8. (a) 单位长度的线形单股链及环形单股链; (b) 单位长度的单股环, 大于及小于单位长度的单股片段; (c) 大于单位长度的线形片段 (d) 单位长度的环及小于单位长度的线形片段; (e) 单股环; (f) 形成(+)股链的 DNA, 是与预先存在的(+)链共价结合, 并系通过连续复制形成的, 而形成(-)股链的新合成 DNA 则是不连续合成的, 即通过岡崎 (Okazaki) 片段而合成。

第三十三章

1. (a) 5.2s; (b) 36.9 倍

2. 414 个磷酸键
 3. (a) 3.2; (b) 10.4
 4. (a) 1,000; (b) 27,300; (c) 5.45×10^7 ATP; (d) 5.45×10^8 ATP;
 (e) 7.5×10^8 ATP; (f) 46.9 倍; (g) tRNA, 氨基酰 tRNA 合成酶, 蛋白因子,
 RNA 聚合酶; 终止因子如 ρ , tRNA 修饰酶。
 5. (a)-E-Y-D-S $\xrightarrow{\text{指导转录}}$; (b) 突变型 S, 突变型 D, 突变型 Y, 突变型 E

第三十四章

1. (a) 甘-谷酰-丝-亮-亮-异亮; (b) 亮-门冬-丙; (c) 组-门冬-丙-半胱-半胱-酪; (d) 蛋-门冬-谷
2. a, b, c, d, 稳定; e, f, g, 不稳定
3. HbI, 转换; HbG_{Honolulu}, 颠换; Hb_{Norfolk} 转换; HbM_{Boston}, 转换; HbG_{Phil}, 转换; HbO_{Indonesia}, 转换
4. (a) 5' TCGAGTAGCCGATGATCATCGTCGACGA3';
 (b) 5' UCGAGUAGCCGAUGAUCAUCGUUCGACGA 3';
 (c) 丝-丝-丝-精;
 (d) 丝-丝-丙-门冬-门冬-组-精-精-精
5. (a) 对的; (b) UGG → UUG → CUG → CCG
6. (a) 赖; (b) 门酰胺或赖
7. GUA
8. 赖 150; 精 30; 谷 30; 甘 6
9. (a) 在第二个密码子; (b) 第一位; (c) AUGACCUUCAUAUGG;
 (d) 蛋-丙-苯丙-异亮-色

第三十五章

1. (a) 0, 0, 0; (b) 13,800; 6,900; 0; (c) 1.5×10^5 ; 6,900; 34,500
2. 3'-GCAGTCACTGC-5', 5'-CGTCAGTGACG-3'
3. CAP 结合部位, 启动子
4. (a) 组氨酸 tRNA 合成酶; (b) 组氨酸阻遏物能控制其本身的合成, 但在那些因为缺少共阻遏物而使它不能与其本身操纵基因结合的部位, 则可自行合成。
5. (a) 缺失全部或大部分乳糖操纵子; 结构基因中的移码突变; 结构基因中无意义的突变; 产生无功能酶的密码子改变; 启动子突变(不能与 RNA 聚合酶结合); 转录终止信号提前; CAP 结合部位发生突变而阻止结合; i 基因突变, 以致即使有诱导物存在, 阻遏物仍与操纵基因结合(i^s 突变);
 (b) 腺苷酸环化酶缺陷; CAP 不能与 cAMP 结合; (c) (1) Lac 基因缺失, (2) 涉及到结构基因的任何突变; 转录终止信号提前, (3) i^s 突变, (4) CAP 结合部位缺陷;
 (d) 启动子
6. -REVILEDANDYDNADELIVER-

[朱定尔、袁恬莹译 卢义钦校]

统一书号：13031·223

定 价： 3.80

本社书号：3059·13-10

科技新书目：47-29